

# Razvoj funkcionalnih proizvoda na bazi rajčice uz dodatak kanabidiola

---

Švaljek, Silvija Lea

Master's thesis / Diplomski rad

2023

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

*Permanent link / Trajna poveznica:* <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:159:424496>

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

*Download date / Datum preuzimanja:* **2024-07-17**



*Repository / Repozitorij:*

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



SVEUČILIŠTE U ZAGREBU  
PREHRAMBENO-BIOTEHNOLOŠKI FAKULTET

# DIPLOMSKI RAD

Zagreb, rujan 2023.

Silvija Lea Švaljek

**RAZVOJ FUNKCIONALNIH  
PROIZVODA NA BAZI RAJČICE  
UZ DODATAK KANABIDIOLA**

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.



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*

*Na početku se želim zahvaliti mentorici prof.dr.sc. Anet Režek Jambrak na prenesenom znanju, pristupačnosti i srdačnosti tijekom cijelog studiranja. Zahvaljujem se i Josipi Dukić, mag.ing., na strpljenju i pomoći prilikom izrade ovog rada.*

*Također bih se željela zahvaliti i Marineli Nutrizio, mag.ing., zbog koje sam zavoľjela rad u laboratoriju.*

*Najviše se zahvaljujem svojim roditeljima, Sanji i Dubravku, te dečku Petru na bezuvjetnoj podršci i ljubavi. Djedu Josipu na svakoj vožnji i baki Mariji na svakom džeparcu nakon položenog ispita.*

*Hvala vam na svemu.*

# TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

Diplomski rad

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

**Znanstveno područje:** Biotehničke znanosti

**Znanstveno polje:** Prehrambena tehnologija

**Diplomski sveučilišni studij:** Prehrambeno inženjerstvo

RAZVOJ FUNKCIONALNIH PROIZVODA NA BAZI RAJČICE UZ DODATAK KANABIDIOLA

*Silvija Lea Švaljek*, univ. bacc. ing. techn. aliment.  
0058213303

**Sažetak:** U homogenizirane uzorke soka i sosa rajčice dodan je kanabidiol (CBD). Uzorci su tretirani ultrazvukom visokog intenziteta (amplituda 75 % i 100 %), toplinskim tretmanom (60 °C, 3 min) te *hot break* tretmanom (85 °C, 3 minute). Određivani su fizikalni parametri, koncentracija ukupnih polifenola, antioksidacijska aktivnost te koncentracije biljnih pigmenata. Uzorci su analizirani na dan pripreme te nakon 7 dana skladištenja na temperaturi od 4 °C te je analizirana mikrobiološka stabilnost. Ultrazvučnim tretmanom postignuto je najveće povećanje ukupnih polifenola (111,5 %), antioksidacijske aktivnosti (179 %) te koncentracije likopena (70 %) u sosu rajčice s dodatkom CBD-a, dok u uzorku soka rajčice s dodatkom CBD-a pokazuje najveće povećanje koncentracije svih biljnih pigmenata (likopen 233,8 %, klorofil a 83,1 %, klorofil b 96,5 %). Tretman ultrazvukom reducira broj aerobnih mezofilnih bakterija. Niti u jednom uzorku nisu pronađene patogene bakterije *Escherichia coli* i *Bacillus coagulans* iznad granične vrijednosti te su dobiveni proizvodi zdravstveno ispravni.

**Ključne riječi:** rajčica, ultrazvuk, kanabidiol - CBD, antioksidacijska aktivnost, mikrobiološka analiza

**Rad sadrži:** 58 stranica, 6 slika, 13 tablica, 94 literaturna navoda

**Jezik izvornika:** hrvatski

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

**Mentor:** prof. dr. sc. Anet Režek Jambrak

**Pomoć pri izradi:** Josipa Dukić, mag.ing.

**Stručno povjerenstvo za ocjenu i obranu:**

1. prof. dr. sc. Verica Dragović – Uzelac (predsjednica)
2. prof. dr. sc. Anet Režek Jambrak (mentorica)
3. izv. prof. dr. sc. Sven Karlović (član)
4. prof. dr. sc. Jasenka Gajdoš Kljusurić (zamjenska članica)

**Datum obrane:** 22. rujna 2023.

## BASIC DOCUMENTATION CARD

Graduate Thesis

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

**Scientific area:** Biotechnical Sciences  
**Scientific field:** Food Technology

**Graduate university study programme:** Food Engineering

### DEVELOPMENT OF FUNCTIONAL TOMATO-BASED PRODUCTS WITH THE ADDITION OF CANNABIDIOL

*Silvija Lea Švaljek*, univ. bacc. ing. techn. aliment.  
0058213303

**Abstract:** In homogenized tomato sauce and juice samples cannabidiol (CBD) was added. Samples were treated with high power ultrasound (amplitudes 75 % and 100 %), thermal (60 °C, 3 min) and *hot break* treatment (85 °C, 3 min). Physical parameters, total phenolic content, antioxidant activity and plant pigments concentrations were analyzed. Samples were analyzed on the preparation day and after 7 days of storage at 4 °C. Microbiological stability was analyzed too. Ultrasound treatment of sauce (with addition of CBD) resulted in the highest total phenolic content (111.5 %), antioxidant activity (179 %) and lycopene (70 %) increase. Ultrasound treatment in juice sauce (with addition of CBD) resulted in the highest plant pigments concentration increase (lycopene 233.8 %, chlorophyll a 83.1 %, chlorophyll b 96.5 %). Ultrasound treatment also reduces the number of aerobic mesophilic bacteria. No pathogenic bacteria such as *Escherichia coli* or *Bacillus coagulans* were found above the limit value, so the products are safe to consume.

**Keywords:** *tomato, ultrasound, cannabidiol - CBD, antioxidant activity, microbiological stability*

**Thesis contains:** 58 pages, 6 figures, 13 tables, 94 references

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

**Thesis defended:** September 22<sup>nd</sup>, 2023.



## SADRŽAJ

1. UVOD .....	1
2. TEORIJSKI DIO .....	2
2.1. RAJČICA .....	2
2.1.1. Uvjeti uzgoja rajčice.....	2
2.1.2. Kemijski sastav .....	2
2.1.3. Sok od rajčice .....	3
2.1.4. Sos od rajčice .....	4
2.2. KONOPLJA .....	4
2.2.1. Uvjeti uzgoja .....	5
2.2.2. Morfologija konoplje te njena primjena.....	6
2.2.3. Kanabinoidi .....	6
2.3. VISOKOTLAČNA HOMOGENIZACIJA .....	7
2.4. ULTRAZVUK .....	8
2.5. ANALITIČKE METODE .....	9
2.5.1. Metoda određivanja ukupnih polifenola Folin – Ciocalteu reagensom .....	9
2.5.2. Metoda određivanja antioksidacijske aktivnosti DPPH metodom.....	9
2.5.3. Metoda određivanja pigmenata .....	10
2.6. MIKROBIOLOŠKA ANALIZA.....	10
2.7. PREGLED DOSADAŠNJIH ISTRAŽIVANJA FUNKCIONALNIH PROIZVODA NA BAZI RAJČICE.....	10
3. EKSPERIMENTALNI DIO.....	12
3.1. MATERIJALI .....	12
3.1.1. Rajčica.....	12
3.1.2. CBD.....	12
3.1.3. Laboratorijski uređaji i pribor .....	12
3.1.4. Kemikalije .....	13
3.2. METODE.....	14
3.2.1. Priprema soka i sosa rajčice .....	14
3.2.2. Podešavanje fizikalnih parametara.....	14
3.2.3. Dodavanje CBD-a .....	14
3.2.4. Tretmani i uzorci .....	15
3.2.5. Određivanje antioksidacijske aktivnosti.....	18
3.2.6. Određivanje ukupnih polifenola.....	20
3.2.7. Određivanje koncentracije pigmenata.....	21

3.2.8. Mikrobiološka analiza .....	22
3.3. OBRADA REZULTATA .....	24
4. REZULTATI I RASPRAVA .....	25
4.1. UTJECAJ I USPOREDBA TRETMANA I VREMENA SKLADIŠTENJA NA FIZIKALNO-KEMIJSKE PARAMETRE.....	25
4.1.1. Utjecaj tretmana na fizikalne parametre.....	25
4.1.2. Utjecaj tretmana na koncentraciju ukupnih polifenola .....	29
4.1.3. Utjecaj tretmana na antioksidacijsku aktivnost.....	32
4.1.4. Utjecaj tretmana na koncentraciju biljnih pigmenata.....	36
4.2. REZULTATI MIKROBIOLOŠKE ANALIZE.....	41
4.2.1. Rezultati mikrobiološke analize sosa rajčice s dodatkom CBD-a.....	41
4.2.2. Rezultati mikrobiološke analize soka rajčice s dodatkom CBD-a .....	43
5. ZAKLJUČCI .....	47
6. LITERATURA.....	48

# 1. UVOD

U posljednje vrijeme sve je veća potražnja za funkcionalnim proizvodima te minimalno procesiranom hranom kojoj je očuvana nutritivna vrijednost i kvaliteta. Nutrijenti prisutni u rajčici pogodni su za ljudsko zdravlje te pomažu očuvanju kardiovaskularnog te koštanog sustava. Rajčica obiluje i vitaminima, mineralima, esencijalnim aminokiselinama, antioksidansima te fenolima (Ali i sur., 2021). Nadalje, u posljednje vrijeme uvelike se istražuju povoljni učinci kanabinoida na ljudsko zdravlje, od kojih se posebno ističe kanabidiol (CBD). Smatra se kako CBD ima neuroprotektivno djelovanje, ublažava posljedice kemoterapije, inhibira rast stanica određenih tipova karcinoma, poboljšava spavanje, ublažava mučnine te se ističe se kao jak antioksidans. (Mechoulam, 2007).

S obzirom na prednosti konzumacije rajčice te povoljnih karakteristika CBD-a, istražuju se metode koje će u što većoj mjeri sačuvati ranije navedene nutrijente. Jedna od takvih metoda je i ultrazvuk koji predstavlja tehnologiju obrade hrane koja inaktivira mikroorganizme pri nižim temperaturama prilikom čega ne utječe značajno na nutritivni sastav hrane te njena senzorska svojstva (Salehi, 2020). Često se istražuju učinci ultrazvuka u odnosu na tradicionalne toplinske tretmane.

Cilj ovog rada bio je istražiti utjecaj ultrazvuka na fizikalna svojstva te stabilnost bioaktivnih spojeva soka i sosa rajčice s dodatkom CBD-a u odnosu na tradicionalne tretmane (toplinski tretman te *hot break* tretman). Istraživanje je uključivalo analizu fizikalnih parametara (°Brix-a, pH i električnu vodljivost) i kemijskih parametara (ukupni polifenoli, biljni pigmenti likopen, klorofila a i klorofila b) te antioksidacijska aktivnost). Također je provedena i mikrobiološka analiza nultog i sedmog dana skladištenja.

Konačan cilj istraživanja bio je dobiti zdravstveno ispravan funkcionalan proizvod od rajčice s dodatkom CBD-a u kojem su maksimalno sačuvani nutrijenti.

## 2. TEORIJSKI DIO

### 2.1. RAJČICA

Rajčica (*Solanum lycopersicum* L.) pripada jednogodišnjim biljkama te je prepoznatljiva po crvenoj boji ploda. Svrstava se u porodicu pomoćnica (*Solanaceae*). Vrlo se često konzumira u svježem ili procesiranom obliku te u se svijetu po konzumaciji i proizvodnji nalazi odmah nakon krumpira (Pérez-Marín i sur., 2021). Najpoznatiji proizvodi od rajčice su sos, sok, kečap, pelati, pasta i slično (Kakabouki i sur., 2021).

#### 2.1.1. Uvjeti uzgoja rajčice

Prilikom uzgoja rajčice potrebno je obratiti pažnju na uvjete kojima se ista izlaže. Rajčica se uzgaja u plastenicima, staklenicima i na poljima. Minimalna temperatura za klijanje iznosi 10 °C, dok je optimalna temperatura između 22 °C i 25 °C. Rastu i razvoju pogoduje temperatura između 18 °C i 22 °C. Preporučena vlažnost iznosi 55 % do 65 % uz puno svjetlosti. Zbog razvoja korijena glineno tlo nije pogodno za uzgoj, a pH tla optimalan za rast kreće se od 6 pa do 6,5. Biljka može narasti do 3 m visine te raste razgranato. Zeleni dijelovi obrasli su dlačicama, dok su cvjetovi žuti te se sakupljaju u grozdove (Parađiković, 2002). Plodovi su u početku zeleni, a sazrijevanjem poprimaju karakterističnu boju sorte. Obično su plodovi crvene ili žute boje (Lagundžija, 2021). Sadnja rajčice počinje u veljači ili ožujku, a berba započinje 90 do 120 dana od sadnje (Parađiković, 2002). Vrlo važna stavka prilikom uzgoja jest i ta da je potrebno u što većoj mjeri spriječiti štetu od patogena prisutnih u tlu. Osim temperature bitno je voditi računa i o salinitetu, utjecaju teških metala te se pobrinuti da biljka dobiva dovoljno vode i nutrijenata. U svrhu povećanja rezistencije često se uvodi cijepljenje biljke (Singh i sur., 2017).

#### 2.1.2. Kemijski sastav

Rajčica u najvećem udjelu sadrži vodu, točnije 94,52 %. Ugljikohidrati čine 3,89 % ploda, od čega se 2,63 % odnosi na šećere, a 1,2 % na vlakna. Proteini čine 0,88 %, lipidi 0,2 %, a pepela ima 0,5 % (Chaudhary i sur., 2018). Plod rajčice obiluje nutrijentima poput vitamina, minerala, vlakana, esencijalnih aminokiselina i slično. Nutrijenti prisutni u rajčici pogodni su za ljudsko zdravlje te djeluju na način da preveniraju konstipaciju, smanjuju visoki krvni tlak, poboljšavaju cirkulaciju, održavaju razinu masnoća u ravnoteži te strukturu i zdravlje kostiju. Unutar ploda nalaze se topljiva i netopljiva vlakna koja pomažu kod problema s

probavom. Od vlakana najprisutniji su celuloza, hemiceluloza i pektin. Od minerala, u najvećim koncentracijama zastupljeni su kalcij, kalij, natrij, magnezij i fosfor. Najzastupljenije esencijalne aminokiseline su glutaminska i asparaginska kiselina. Važno je i prisutstvo vitamina E i C te fenolnih spojeva poput kvercetina, naringenina, kafeinske kiseline, luteina. Uz  $\beta$  – karoten, najvažniji karotenoid unutar ploda rajčice jest likopen (Ali i sur., 2021).

Likopen je prirodan crveni pigment kojeg sintetiziraju biljke i mikroorganizmi za apsorpciju svjetla tijekom fotosinteze i zaštite uslijed fotosenzibilizacije. Neciklički je karotenoid molekulske formule  $C_{40}H_{56}$ , te kao i ostali karotenoidi nije topljiv u vodi. (Rao i sur., 2006). Likopen je prepoznatljiv po svojim izrazitim antioksidacijskim svojstvima te istraživanja dokazuju kako likopen doista ima važnu ulogu u prevenciji kroničnih bolesti. Očituje se i antikancerogenim svojstvima, protuupalnim, kardioprotektivnim te pokazuje benefit u borbi s dijabetesom (Ali i sur., 2021; Rao i sur., 2006). Procesiranje rajčica, poput kuhanja ili pečenja, ne utječe znatno na gubitak likopena. Osim toga, likopen se u izvornom obliku pojavljuje u *trans* konfiguraciji, dok se prilikom zagrijavanja, te uz prisutstvo lipida, likopen oslobađa iz stanica čime dolazi do izomerizacije u *cis* konfiguraciju, a time i do povećanja biodostupnosti (Górecka i sur., 2020).

### 2.1.3. Sok od rajčice

Kako bi se sačuvali od kvarenja, proizvodi se podvrgavaju tehnološkim procesima. Primjer takvog proizvoda je sok od rajčice čime se nastoje sačuvati prisutni nutrijenti. Prema Pravilniku o voćnim sokovima i njima sličnim proizvodima namijenjenim za konzumaciju, Narodne novine 48 iz 2013. godine, sok od rajčice svrstava se među voćne sokove jer se u okviru Pravilnika rajčica smatra voćem. Propisana vrijednost suhe tvari iznosi 5,0, a dopušteno je dodavanje soli, začina i aromatskog bilja.

Sok od rajčica proizvodi se od cijelih rajčica. Započinje prihvatom, sortiranjem i pranjem, nakon čega slijedi guljenje uz pomoć lužine ili pare. Potom se sirovina usitnjava te odlazi na postupak zagrijavanja odnosno *breaking* postupak. Razlikuje se *hot breaking* (topli) i *cold breaking* (hladni) postupak. *Hot breaking* karakterizira temperatura između 93 °C i 99 °C, dok je *cold breaking-a* temperatura manja od 70 °C. Visoka temperatura prisutna kod *hot breaking* postupka omogućuje inaktivaciju enzima te povećanje viskoznosti proizvoda. Pri tome su posebno važni enzimi pektinmetilesteraza i poligalakturonaza pri čemu dolazi do degradacije molekula pektina. Ipak, u ovom postupku dolazi do gubitka arome proizvoda. U *cold break* postupku dolazi do povećanja aktivnosti enzima pri čemu dolazi do smanjenja

viskoznosti, a osim toga u proizvodu ne dolazi do remećenja prirodne boje i okusa. Upravo je *cold break* postupak pogodniji pri proizvodnji soka od rajčice (Goodman i sur., 2002). Nakon *breaking* postupka slijede postupci ekstrakcije, deaeracije, homogenizacije te na kraju punjenje u sterilnim uvjetima (Wu i sur., 2022). Sok karakteriziraju suspendirane čestice veće od 150 µm u promjeru, a struktura soka rajčice sačinjena je od dugačkih lanaca polimera celuloze, lignina, hemiceluloze te pektina. Viskoznost soka ovisi o udjelu topljivog pektina i njegovom stupnju esterifikacije. Svojstvo soka, ali i pirea ili koncentrata da ostane stabilan, ovisi o ukupnoj količini prisutnog pektina i strukturi molekula u sastavu istog (Wu i sur., 2008). Prilikom procesiranja vrlo je važno voditi računa o sprječavanju mikrobne kontaminacije uzrokovane bakterijama i plijesnima koje mogu preživjeti u navedenim proizvodima. Prisutstvo mikroorganizama može uzrokovati degradaciju ugljikohidrata, proteina i vitamina te pojavu neugodnog mirisa i okusa, gubitak boje te promjene u pH i teksturi. Poseban problem predstavljaju bakterije roda *Bacillus* i *Clostridium*. Navedene sporogene bakterije preživljavaju tretman unatoč visokim temperaturama. Vrlo često se u proizvodima od rajčice javlja i bakterija *Bacillus cereus* koja preživljava uvjete kuhanja (Sibomana i sur., 2020).

#### 2.1.4. Sos od rajčice

Sos od rajčice proizvodi se na sličan način kao i sok. Proizvodnja započinje prihvatom nakon čega slijedi skladištenje i sortiranje, zatim pranje i mehaničko guljenje. Sljedeći korak je već spomenuti *hot break* postupak koji je pogodan za sos zbog inaktivacije enzima, većeg iskorištenja, olakšanog pasiranja, postizanja odgovarajuće viskoznosti, postizanja homogenosti koncentrata, ali i djelomično uništenja mikroorganizama. Slijedi pasiranje, a provodi se i deaeracija i homogenizacija. Kako bi se postigla željena konzistencija sosa provodi se koncentriranje, prvo na višoj temperaturi od oko 80 °C, a zatim na nižoj temperaturi od 40 °C do potrebnog udjela suhe tvari. Nakon koncentriranja dobiveni sos se puni u ambalažu gdje se provodi toplinski tretman najčešće u obliku pasterizacije, sterilizacije ili obrade visokim tlakom. Proizvod se zatim hladi i pakira. Kontrola proizvoda podrazumijeva kontrolu curenja sadržaja iz ambalaže i mikrobiološku kontrolu (Montanari i sur., 2018).

## 2.2. KONOPLJA

Konoplja (*Cannabis sativa* L.) je jednogodišnja biljka, kritosjemenjača, koja pripada porodici *Cannabinaceae* (Jakubek, 2020). Prema nekim klasifikacijama rod *Cannabis* sastoji se od samo jedne vrste, a to je *Cannabis sativa*. Drugi smatraju kako uz vrstu *Cannabis sativa*

postoje još dvije vrste – *Cannabis indica* i *Cannabis ruderalis*. Te vrste se ponekad tretiraju i kao podvrste *Cannabis sativae* (Schreiber, 2023). Danas je najzastupljenija podjela definirana prema morfologiji biljke i kemijskom sastavu uzimajući u obzir količinu prisutnih kanabinoida. Podjelu čine četiri podvrste jedne vrste *Cannabis sativa* L. (Pollio, 2016) :

- *Cannabis sativa* L. subsp. *sativa* var. *sativa*
- *Cannabis sativa* L. subsp. *sativa* var. *spontanea*
- *Cannabis sativa* L. subsp. *indica* var. *indica*
- *Cannabis sativa* L. subsp. *indica* var. *kafiristanica*

Također, prema prijašnjim taksonomskim podjelama predložena je i podjela na grupe koje opisuju rasprostranjenost biljaka, ali i razinu kanabinoida. Navedenim grupama pripadaju (Pollio, 2016) :

- Biljke koje nisu narkotične, uzgojene zbog vlakana za proizvodnju tkanine, ulja i sjemenki; Zapadna Azija i Europa; nizak udio THC-a i visok udio CBD-a
- Biljke koje nisu narkotične; Istočna Azija i Kina; nizak do srednji udio THC-a, visok udio CBD-a
- Narkotične biljke; Južna Azija (središnja); visok udio THC-a
- Narkotične biljke; Južna Azija; visok udio THC-a, visok udio CBD-a

Narkotične biljke su one koje u svojem sastavu sadržavaju drogu, odnosno spojeve koji izazivaju podražaje živčanog sustava (Pollio, 2016).

### 2.2.1. Uvjeti uzgoja

Za pravilan uzgoj konoplje minimalna temperatura klijanja mora se kretati između 1 i 2 °C, dok optimalna temperatura iznosi 20 °C. Problem koji se često javlja prilikom uzgoja je preuranjeno cvjetanje gdje biljke ostaju niske odnosno dolazi do pojave nanizma. Takva pojava javlja se često u područjima visokih temperatura, gdje je sjetva obavljena prekasno te biljka ulazi u fazu sporog rasta. Nadalje, optimalan udio vlage iznosi oko 70 %, a posebnu pozornost treba obratiti na količinu vode koju biljka dobiva. Naime, ukoliko se stajaća voda ne ukloni oko biljke, dolazi do potpunog uništenja iste. Sjetva se vrši u travnju gdje je optimalna temperatura između 12 °C i 16 °C. Berba se vrši nakon cvatnje više od 50 % muških biljaka i pojave ženskih cvjetova (Butorac, 2009).

### 2.2.2. Morfologija konoplje te njena primjena

Korijenov sustav konoplje je vretenast te prodire u tlo i do 2 m dubine. Stabljika je uspravna te je u početku zeljasta, a kasnije očvršne odnosno odrveni. Zelene je boje te prekrivena dlačicama koje kasnije otpadnu. Raspon u kojem može narasti kreće se od 50 cm pa sve do 6 m, ovisno o području u kojem se uzgaja. Konoplja je dvodomna biljka što znači da postoje i muške i ženske biljke. Muške biljke karakterizira manji broj listova te rahliji cvijet koji se sastoji od perigona i pet prašnika. Muške biljke nazivaju se još i bjelojke. Kod ženskih biljaka stabljika je intenzivnije zelene boje, cvjetovi su smješteni u pazušcima listova te se sastoje od ovojnog listića, perigona i tučka s dvije njuške. Također je kod ženskih biljaka korijen bolje razvijen.

Konoplja se primjenjuje za izradu obuće, odjeće, tkanine, užadi, konopa te platna zbog vlakana prisutnih u istoj, dok se drvenasti dio koristi za izradu papira. Od sjemenki konoplje proizvodi se ulje, a od listova čajevi. Iz cvijeta konoplje mogu se izolirati kanabinoidi koji se mogu primjenjivati u medicinske svrhe (Butorac, 2009).

### 2.2.3. Kanabinoidi

Kanabinoidi pripadaju skupini prirodnih tvari koji su karakteristični za biljku konoplju te ih se može pronaći na stotine (NIH, 2019). Kanabinoidi se svrstavaju u tri glavne skupine – prirodne molekule u biljci, sintetizirane molekule i endokanabinoidi koji su nađeni u centralnom živčanom sustavu većine životinja. Kao glavni kanabinoidi te ujedno najpoznatiji ističu se tetrahidrokanabinol (THC) i kanabidiol (CBD). Istraživanja su pokazala kako primjena kanabinoida pomaže u borbi s epilepsijom, ublažava mučninu i povraćanje, posebice nakon primanja kemoterapije. Također pomaže kod smanjenja utjecaja gubitka apetita i redukcije tjelesne mase uzrokovane HIV-om, te u borbi s kroničnim bolovima i multiplom sklerozom (Strouse, 2016).

#### 2.2.3.1. Tetrahidrokanabinol (THC)

Tetrahidrokanabinol (THC) pripada skupini kanabinoidnih alkaloida te dolazi u obliku viskozne smole, netopljive u vodi, no topljive u organskim otapalima poput etanola (Bujas, 2020). THC se smatra glavnom psihoaktivnom komponentom konoplje te tako izoliran THC pripada skupini fitokanabinoida odnosno delta-9 skupini. Također postoji i sintetički THC koji se naziva dronabinol te je dostupan u pilulama kao lijek na recept. Delta-9-THC odgovoran je



za razne promjene u organizmu kao što su katalepsija, arefleksija, euforija, neraspoloženje, motorički poremećaji i slično. Promjene koje će se dogoditi ovise o organizmu. Mehanizam djelovanja delta-9 tipa jest takav da dolazi do vezanja na G-protein dvaju kanabinoidnih receptora poznatih pod nazivom CB1 i CB2 koji su otkriveni u tkivu sisavaca. CB1 nalazi se i izvan i unutar centralnog živčanog sustava, dok se CB2 nalazi isključivo u perifernom živčanom sustavu (Tomašić Paić, 2012).

#### 2.2.3.2. Kanabidiol (CBD)

Za razliku od THC-a, CBD predstavlja nepsihotropnu komponentu unutar biljke konoplje. Mehanizam kojim CBD djeluje nije jednak onome kod delta-9-THC-a te ima nizak afinitet prema kanabinoidnim receptorima CB1 i CB2. Istraživanja pokazuju kako CBD izaziva različite povoljne učinke na organizam. Među njima se ističu poboljšano spavanje, neuroprotektivno, antioksidativno i protuupalno djelovanje. Također pomaže kod reumatoidnog artritisa, smanjuje mučninu i povraćanje, pomaže u borbi s anksioznošću, a posebno se ističe kao potencijalni lijek kod oboljelih od karcinoma. Istraživanja su pokazala kako CBD u određenim koncentracijama inhibira rast dva tipa glioma, u *in vitro* i *in vivo* uvjetima. Određene koncentracije uzrokovale su apoptozu stanica akutne mijeloidne leukemije bez učinka na zdrave stanice (Mechoulam i sur., 2007).

CBD se može primjenjivati u obliku ulja, ekstrakata, kapsula, flastera, kozmetičkih pripravaka i slično. U nekim državama dopuštena je upotreba lijeka *Sativex* u kojem je aktivan sastojak CBD te je takav lijek odobren pri liječenju multiple skleroze i bolova povezanih s različitim tipovima karcinoma. U SAD-u lijek je odobren i za određene tipove epilepsije (Grinspoon, 2021).

### 2.3. VISOKOTLAČNA HOMOGENIZACIJA

Visokotlačna homogenizacija predstavlja novu netoplinsku tehnologiju koja se primjenjuje u procesiranju hrane, kozmetici i farmaceutici. Koristi se u svrhu fragmentacije čestica u disperzije ili emulzije, za stvaranje stabilnih emulzija, za modifikaciju viskoznosti tekućina zbog smanjenja veličine čestica, za olakšanu ekstrakciju metabolita te također za inaktivaciju mikroorganizama, enzima i nekih virusa. Visokotlačnom homogenizacijom naziva se proces koji upotrebljava tlakove između 150 i 200 MPa, dok se upotreba tlakova između 350 i 400 MPa naziva ultra visokom homogenizacijom. Standardna homogenizacija upotrebljava tlakove od 20 do 60 MPa. Smatra se kako ultra visoka homogenizacija može značajno reducirati broj mikroorganizama te se čak u tom pogledu izjednačiti s pasterizacijom (Dumay i sur., 2013).

Princip rada visokotlačnih homogenizatora jest taj da dolazi do prolaska tekućine kroz ventil uskog raspora uz pomoć pojačivača visokog tlaka čime se povećava brzina, što posljedično rezultira smanjenjem tlaka, kavitacijom i velikim smičnim naprezanjem. Time su čestice odnosno stanice i makromolekule prisutne u suspenziji, izložene velikom mehaničkom stresu te postaju deformirane. Proučavane su posljedice djelovanja visokotlačne homogenizacije na različita svojstva hrane, poput utjecaja na boju soka banane, strukturu pulpe ananasa i mrkve, a između ostalog i posljedice djelovanja na sok rajčice. Visokotlačna homogenizacija uzrokovala je smanjenje viskoznosti, povećanje konzistencije, preraspodjelu čestica, promjenu boje i mikrostrukture soka rajčice. Također, tretiranjem se smanjuje potreba za dodatkom hidrokoloida (Kubo i sur., 2013). Hidrokoloide pripadaju skupini dugolančanih polimera (polisaharidi i proteini) koji mogu stvarati viskozne disperzije ili gelove, nakon disperzije u vodi. Razlog zbog kojeg se koriste u prehrambenoj industriji jest zbog njihove sposobnosti modifikacije reologije, ponajprije viskoznosti i teksture, u hrani. Često korišteni hidrokoloide u hrani su guar guma, alginat, pektin, želatina, agar, karagenan i slično (Saha i Bhattacharya, 2010).

## **2.4. ULTRAZVUK**

Ultrazvuk predstavlja tehnologiju koja se temelji na mehaničkim zvučnim valovima koji stvaraju vibracije u mediju. Dijeli se na ultrazvuk visokog te niskog intenziteta. Ultrazvuk visokog intenziteta posebno je bitan jer se upravo taj tip koristi u prehrambenoj industriji. Frekvencije se protežu između 20 kHz i 100 kHz te taj zvuk ljudsko uho ne može čuti (Gallo i sur., 2018). Fenomen koji nastaje uslijed ultrazvučnog tretmana jest kavitacija gdje dolazi do implozije sitnih mjehurića u mediju pri čemu dolazi do lokalne pojave visoke temperature i tlaka. Temperature mogu doseći i 5000°C, a tlak do 1000 bara (Škof, 2020). Kavitacije mogu biti stabilne gdje ne dolazi do implozije već samo do sudaranja kavitacijskih mjehurića i one koje uzrokuju imploziju (prijelazne) te dolazi do prijenosa energije u okolni medij. Ultrazvuk se danas često koristi u prehrambenoj industriji, najčešće kako bi došlo do destrukcije stanica te ekstrakcije intracelularnog materijala. Također se koristi i za deaktivaciju enzima, homogenizaciju, emulgiranje, disperziju, stabilizaciju, kristalizaciju, sazrijevanje sirovina (Li i sur., 2021a).

Primjena koja je posebno zanimljiva kod ultrazvuka jest ta da može dovesti do inaktivacije mikroorganizama pri nižim temperaturama nego kod tradicionalnih toplinskih tretmana poput pasterizacije. Način na koji ultrazvuk djeluje na mikroorganizme povezan je s ranije spomenutom kavitacijom zbog koje dolazi do pucanja staničnih membrana

mikroorganizama te do stvaranja slobodnih radikala, istjecanja staničnog materijala te konačno inaktivacije i smrti mikroorganizama. Inaktivacija uvelike ovisi o primijenjenoj amplitudi, snazi, temperaturi, volumenu uzorka, svojstvima hrane, ali i o karakteristikama mikroorganizma (Starek i sur., 2021). Istraživanja su pokazala kako ultrazvučni tretman može djelovati inhibirajuće na mikroorganizme u soku rajčice bez značajnog utjecaja na nutritivna i senzorska svojstva proizvoda (Salehi, 2020).

## **2.5. ANALITIČKE METODE**

### **2.5.1. Metoda određivanja ukupnih polifenola Folin – Ciocalteu reagensom**

Metoda određivanja ukupnih polifenola Folin – Ciocalteu reagensom temelji se na kolorimetrijskoj reakciji. Folin – Ciocalteu reagens sastoji se od fosfovolframove i fosfomolibdenske kiseline pri čemu se navedene kiseline reduciraju do pripadajućih oksida uslijed oksidacije fenolnih spojeva. Time je vidljivo kako Folin – Ciocalteu reagira s reducirajućim spojevima odnosno polifenolima. Redukcijom do oksida dolazi do pojave plave boje koja je proporcionalna koncentraciji polifenola u uzorku. Mjerenje ukupnih fenola provodi se na UV- Vis spektrofotometru mjerenjem apsorbancije pri valnoj duljini od 765 nm. Rezultati mjerenja najčešće se izražavaju kao ekvivalenti galne kiseline (Lamuela-Raventós, 2018).

### **2.5.2. Metoda određivanja antioksidacijske aktivnosti DPPH metodom**

DPPH odnosno 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil metoda hvatanja slobodnih radikala često je prvi korak u određivanju antioksidacijske aktivnosti uzorka. Slobodni radikali se stvaraju u biološkim sustavima te ih je nemoguće izbjeći. Dokazano je kako dovode do karcinogeneze, mutageneze, kardiovaskularnih bolesti i slično (Kedare i Singh, 2011). Antioksidansi su tvari koji hvataju prethodno spomenute slobodne radikale, te su prirodno prisutni u biološkim sustavima. DPPH je ljubičasto obojen dušikov radikal koji zbog nesparenog elektrona pokazuje jaku apsorpciju u vidljivom dijelu spektra. Kako bi došlo do stabilizacije DPPH potreban je elektron donor, odnosno antioksidans. Time dolazi do reakcije koja dovodi do promjene boje iz tamno ljubičaste u žutu (Pisoschi i Negulsecu, 2011).

### 2.5.3. Metoda određivanja pigmenata

Biljni pigmenti imaju veliku ulogu u prirodi, ali i u prehrambenoj industriji gdje se koriste kao suplementi, bojila i sl. Pigmenti daju željeno obojenje, a jedni od najpoznatijih su klorofili koji daju zelenu boju, karoteni koji daju narančastu boju, ksantofili i lutein koji su zaslužni za žutu boju i sl. Za određivanje pigmenata prvo se isti trebaju ekstrahirati iz, ponekad, kompleksnog matriksa. Svi biljni pigmenti apsorbiraju svjetlo pri određenoj valnoj duljini, dok drugo reflektiraju. Shodno tome, koncentracija pigmenata može se odrediti spektrofotometrijskom metodom, klasičnom i vrlo jednostavnom metodom. Nakon što su pigmenti identificirani, koriste se različite prikladne jednadžbe kojima je moguće odrediti njihovu koncentraciju u uzorku (Dudek i sur., 2014).

## 2.6. MIKROBIOLOŠKA ANALIZA

Povrtni i voćni sokovi, isto kao i sama rajčica, sklone su mikrobiološkom kvarenju zbog visokog udjela vode i hranjivih tvari. Kvarenje se javlja u obliku promjene okusa, teksture, mirisa. Mikroorganizmi često prisutni u rajčici su *Escherichia coli*, *Salmonella sp.*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Bacillus coagulans*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Aspergillus spp.* (Foram i Rukhsar, 2022).

Prema Pravilniku o mikrobiološkim kriterijima za hranu, Narodne novine 74 iz 2008. godine, prisutnost *Escherichiae coli* u graničnim je vrijednostima u rasponu od 100 do 1000 CFU/g odnosno broj kolonija formiranih po g uzorka (eng. *Colony Forming Unit, CFU*). Ono vrijedi za voćne sokove, nepasterizirane, te rezano voće i povrće u gotovoj hrani. Ukoliko se bakterija nalazi u broju ispod graničnih vrijednosti, hrana se označava kao zadovoljavajuća. U navedenom pravilniku, granične vrijednosti su navedene i za *Salmonellu*, no ne i za ostale mikroorganizme prisutne u povrtnim i voćnim sokovima.

## 2.7. PREGLED DOSADAŠNJIH ISTRAŽIVANJA FUNKCIONALNIH PROIZVODA NA BAZI RAJČICE

Podizanje svijesti o zdravoj prehrani potaknulo je istraživanja vezana uz funkcionalne proizvode. Ferro i sur. (2021) istraživali su utjecaj funkcionalnog sosa rajčice na hiperkolesterolemiju. Istraživanje je provedeno na 108 ispitanika oboljelih od hiperkolesterolemije koji su tijekom 6 tjedana konzumirali 150 mL sosa rajčice dnevno te je

istraživanje pokazalo značajno smanjenje razine kolesterola. Pulpa rajčice fermentirana bakterijama mliječne kiseline, *Lactobacillus sakei* KTU05-6, *Pediococcus acidilactici* KTU05-7 i *Pediococcus pentosaceus* KTU05-8 uzrokuje veću biodostupnost karotenoida, s posebnim naglaskom na likopen gdje dolazi do izomerizacije u *cis* formu (Bartkiene i sur., 2013). Borycka (2017) istražuje prehrambena vlakna dobivena iz otpada iz proizvodnje soka i sosa rajčice te ga ističe kao potencijalni dodatak prehrani. Ekstrakti nusproizvoda artičoke, cvjetače, mrkve, celera i luka dodani u sok rajčice u udjelu od 10 %, povećavaju antioksidacijsku aktivnost istog (Larrosa i sur., 2002)

## **3. EKSPERIMENTALNI DIO**

### **3.1. MATERIJALI**

#### 3.1.1. Rajčica

Sorta rajčice koja je korištena za pripremu soka odnosno sosa od rajčice naziva se Volovsko srce te je ista dobivena od tvrtke Ekoprom d.o.o. iz Bešlinca u Hrvatskoj.

#### 3.1.2. CBD

U svrhu istraživanja u sok i sos rajčice dodan je CBD u obliku smole. Sorta konoplje korištena za dobivanje smole naziva se Futura 75. Uzorak smole dobiven je od tvrtke Bio uljara j.d.o.o. iz Krapine u Hrvatskoj. Smola je dobivena etanolnom ekstrakcijom te je u istu dodan izolat CBD-a. Prema podacima Bio uljare j.d.o.o. konačan udio CBD-a iznosio je 60 %.

#### 3.1.3. Laboratorijski uređaji i pribor

Uređaji:

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

Stakleno posude:

- Laboratorijska čaša (200 mL, 500 mL, 1000 mL)
- Menzura (25 mL, 100 mL)
- Odmjerna tikvica (25 mL, 100 mL, 200 mL)

- Lijevak
- Kiveta od kvarcnog stakla
- Termometar
- Kapaljka
- Stakleni štapić

Ostalo posuđe:

- Plastične posude
- Sterilne čaše
- Laboratorijske žlice i špatule
- Laboratorijske lađice za vaganje
- Stalak za epruvete
- Falcon epruvete (15 mL, 50 mL)
- Eppendorf epruvete
- Pipetman Gilson (200 µL, 1000 µL, 5 mL)
- Plastična kiveta

#### 3.1.4. Kemikalije

- Destilirana voda (PBF, Zagreb, Hrvatska)
- Bijeli kristal šećer (Viro tvornica šećera d.d., Virovitica, Hrvatska)
- Limunska kiselina ( Podravka d.d., Koprivnica, Hrvatska)
- 96 % - tni etanol (Gram-mol d.o.o., Zagreb, Hrvatska)
- 70 % - tni etanol  
- dobiven razrjeđivanjem 96 %-tnog etanola u destiliranoj vodi
- Heksan (Honeywell Riedel – de Haën, Seelze, Njemačka)
- Aceton P.A. (Lach – Ner, Neratovice, Češka)
- Trolox®, 6-hidroksi-2,5,7,8-tetrametilkroman-2-karboksilna kiselina, 97 % (Acros Organics, Geel, Belgija)
- 2,2-difenil-1-pikril-hidrazil – DPPH (abcr GmbH, Karlsruhe, Njemačka)
- Folin – Ciocalteu reagens (Sigma – Aldrich, Burlington, SAD)
- Natrijev karbonat, bezvodni (Kemika, Zagreb, Hrvatska)
- Galna kiselina (Acros Organics, New Jersey, SAD)

## 3.2. METODE

### 3.2.1. Priprema soka i sosa rajčice

Priprema soka i sosa rajčice započinje pripremom sirovine. Rajčice se najprije kratko potope u vrućoj vodi, a zatim prebace u hladnu vodu radi lakšeg uklanjanja kože. Nakon uklanjanja kože slijedi priprema soka i sosa. Za pripremu soka i sosa korišten je sokovnik Ultra Juice Meca ZC600 na kojem je potrebno bilo regulirati udio pulpe točnije povećati udio pulpe u sosu, a smanjiti udio pulpe u soku. Nakon pripreme soka i sosa provedena je homogenizacija istih, a u tu svrhu korišten je uređaj GEA Lab Homogenizer PandaPLUS 2000. Prije homogenizacije sok od rajčice je razrijeđen s vodom u omjeru 4:3 pri čemu je u 400 mL soka dodano 300 mL destilirane vode.

### 3.2.2. Podešavanje fizikalnih parametara

Nakon homogenizacije soka i sosa od rajčice uslijedilo je podešavanje fizikalnih parametara. Mjereni su stupnjevi °Brix-a, električna vodljivost i pH. Stupnjevi Brix-a su mjereni uz pomoć refraktometra. Prema uputama projektnih partnera, vrijednost °Brix-a za netretirani sok trebao je biti 6, a za sos 14. Odskakanje od navedenih vrijednosti nadomješteno je dodavanjem bijelog kristal šećera. Isto tako je provedeno i mjerenje pH i električne vodljivosti uz pomoć pH–EC metra. Također prema uputama, pH vrijednosti soka i sosa trebale su iznositi 4. Odstupanje od istog prilagođava se dodavanjem limunske kiseline u obliku 50 %-tne otopine. Otopina je pripremljena na način da je limunska kiselina otopljena u destiliranoj vodi u omjeru 1:2. Navedena mjerenja provedena su netom nakon homogenizacije odnosno nultog dana skladištenja, ali isto tako i sedmog dana skladištenja. Mjerenja fizikalnih parametara provedena su i nakon tretiranja uzoraka. Regulacija fizikalnih parametara dodavanjem šećera i otopine limunske kiseline obavlja se isključivo netom nakon homogenizacije, dok se u svim kasnijim slučajevima fizikalni parametri ne namještaju odnosno provodi se samo mjerenje.

### 3.2.3. Dodavanje CBD-a

Nakon podešavanja fizikalnih parametara slijedi dodavanje smole određenog postotka CBD-a. Dogovoreno je kako će udio CBD-a u soku odnosno sosu od rajčice iznositi 1 %. Time je bilo potrebno izračunati masu smole za odvag u volumenu od 500 mL. Masa CBD-a koja se mora naći u volumenu jest 5 g s obzirom da 1 % od 500 mL čini upravo 5 g. Sljedeći korak



je računanje ukupne mase smole koju je potrebno odvagati kako bi se osigurao željeni postotak CBD-a u uzorku.

Izračun mase vrši se pomoću sljedeće formule:

$$m(\text{smjesa}) = \frac{m(\text{sastojak})}{\omega(\text{sastojak})} \quad [1]$$

Pri čemu  $m$  (smjesa) predstavlja masu smole koju je potrebno odvagati,  $m$  (sastojak) predstavlja masu CBD-a, dok  $\omega$  predstavlja maseni udio CBD-a. Izračunom je dobiveno kako je potrebno odvagati 8,33 g smole.

#### 3.2.4. Tretmani i uzorci

Volumen soka odnosno sosa od rajčice s dodatkom CBD-a koji je odvojen za analize iznosi 500 mL. Pri tome se 100 mL uzima za tretman ultrazvukom pri amplitudi od 75%, 100 mL za tretman ultrazvukom pri amplitudi od 100%, 100 mL za *hot break* tretman te 100 mL za toplinski tretman. Preostalih 100 mL se ne tretira te služi kao kontrolni uzorak. Od 100 mL netretiranog odnosno tretiranog soka ili sosa odvaja se po 10 mL te prenosi u dvije Falcon epruvete. Prva epruveta služi za analize koje se provode nultog dana skladištenja, dok druga služi za provođenje analize nakon 7 dana skladištenja na temperaturi od + 4°C. Nadalje, u dvije sterilne čaše odvaja se po 40 mL tretiranog/netretiranog uzorka za provedbu mikrobiološke analize nultog i sedmog dana skladištenja na temperaturi od + 4°C.

Uslijedili su tretmani ultrazvukom visokog intenziteta, *hot break* tretman te toplinski tretman.

##### 3.2.4.1. *Hot break* tretman

Uzorci su nakon podešavanja parametara podvrgnuti *hot break* tretmanu. Kako bi se tretman proveo, potrebno je odvojiti 100 mL uzorka soka odnosno sosa od rajčice s dodanim CBD-om te prenijeti u laboratorijsku čašu pomoću menzure. Preporučena temperatura početnog uzorka iznosi 20 °C. U laboratorijsku čašu volumena 1000 mL preneseno je između 200 i 300 mL vode te postavljeno na magnetsku miješalicu s grijanjem. Na magnetskoj miješalici s grijanjem podešena je temperatura od 90 °C te je termometrom potrebno mjeriti temperaturu vode do postizanja spomenute temperature. Za to vrijeme priprema se posuda u kojoj se nalazi voda i

led (ledena kupelj) koja će se koristiti nakon tretmana. Nakon što je postignuta temperatura od 90 °C, u čašu s vodom uranja se čaša s uzorkom te neprestano miješa uz kontrolu temperature. Uzorak treba postići temperaturu od 85 °C što traje u prosjeku 11 minuta. Nakon postizanja temperature od 85 °C, započinje miješanje staklenim štapićem u trajanju od 3 minute, nakon čega se čaša s uzorkom prebaci u ledenu kupelj te neprestano miješa 9 minuta. Uzorci se potom odvajaju u sterilne čaše za mikrobiološku analizu te Falcon epruvete za određivanje parametara, ukupnih polifenola, antioksidacijske aktivnost te pigmentata. Navedene analize provode se za sve tretirane uzorke, kao i za kontrolni uzorak, nultog dana te sedmog dana skladištenja (+4°C).

#### *3.2.4.2. Toplinski tretman*

Za provođenje toplinskog tretmana potrebno je odvojiti 100 mL uzorka soka odnosno sosa s dodatkom CBD-a. Na magnetsku miješalicu s grijanjem postavljena je laboratorijska čaša od 1000 mL s 200 do 300 mL vode. U čašu s vodom uronjena je čaša s uzorkom te je mjerena temperatura. U trenutku postizanja temperature od 60 °C započinje miješanje u trajanju od 3 minute čime taj proces završava.

#### *3.2.4.3. Tretman ultrazvukom visokog intenziteta*

Tretman ultrazvukom odnosno termosonifikacija također započinje odvajanjem 100 mL uzorka u laboratorijsku čašu. Čaša se potom postavlja unutar kućišta uređaja te se u uzorak uranja sonda promjera 12 mm te termočlanak. Čaša se postavlja pažljivo na način da sonda ne dodiruje rubove čaše te da je dovoljno uronjena za pravilno izvođenje tretmana. Na zaslonu kućišta ultrazvučnog uređaja podešavaju se parametri amplitude te vrijeme tretiranja. Amplituda korištena u tretmanu iznosila je 75 % za prvi uzorak te 100 % za drugi uzorak. Temperatura je iznosila 60 °C za oba uzorka, dok je vrijeme tretiranja iznosilo 3 minute. Kako bi se spriječilo dodatno povećanje temperature te pregrijavanje uzorka, tijekom tretmana pažljivo je praćena temperatura te je po potrebi tretman prekinut, a čaša s uzorkom uronjena u ledenu kupelj. Potom je čaša ponovno vraćena na tretiranje do završetka tretmana.

#### *3.2.4.4. Označavanje uzoraka*

Svi uzorci su homogenizirani pri tlaku od 1000 bara. Ukupno je dobiveno 5 uzoraka soka s dodatkom CBD-a te 5 uzoraka sosa od rajčice s dodatkom CBD-a. U Tablici 1 navedeni su uzorci zajedno s pojašnjenjima njihova značenja.

**Tablica 1.** Oznake uzoraka te njihova značenja

Sos od rajčice s dodatkom CBD-a		Sok od rajčice s dodatkom CBD-a	
Oznaka	Značenje	Oznaka	Značenje
<b>CSCBD</b>	Kontrolni uzorak – netretirani uzorak sosa	<b>CJCBD</b>	Kontrolni uzorak – netretirani uzorak soka
<b>TSCBD</b>	Uzorak sosa tretiran <i>hot break</i> tretmanom	<b>TJCBD</b>	Uzorak soka tretiran <i>hot break</i> tretmanom
<b>HBSCBD</b>	Uzorak sosa tretiran toplinskim tretmanom	<b>HBJCBD</b>	Uzorak soka tretiran toplinskim tretmanom
<b>US1CBD</b>	Uzorak sosa tretiran ultrazvukom visokog intenziteta pri amplitudi od 75 %	<b>UJ1CBD</b>	Uzorak soka tretiran ultrazvukom visokog intenziteta pri amplitudi od 75 %
<b>US2CBD</b>	Uzorak sosa tretiran ultrazvukom visokog intenziteta pri amplitudi od 100%	<b>UJ2CBD</b>	Uzorak soka tretiran ultrazvukom visokog intenziteta pri amplitudi od 100%

CBD – kanabidiol

U Tablici 2 navedene u dopunske oznake uzoraka te njihova značenja. Svi su uzorci skladišteni na temperaturi od 4 °C.

**Tablica 2.** Dopunske oznake uzoraka te njihova značenja

Dopunska oznaka	Značenje
0. dan	Uzorak analiziran nultog dana skladištenja
7.dan	Uzorak analiziran sedmog dana skladištenja (+ 4°C)

### 3.2.5. Određivanje antioksidacijske aktivnosti

Određivanje antioksidacijske aktivnosti provodilo se spektrofotometrijski koristeći DPPH metodu prema Brand – Williams i sur. (1995) uz modifikacije partnera projekta. Prvi korak u određivanju antioksidacijske aktivnosti jest pripremiti otopinu DPPH. Za pripremu otopine potrebno je izvagati 2,4505 mg DPPH na analitičkoj vagi te navedenu masu prenijeti u odmjernu tikvicu od 100 mL te nadopuniti 96 %-tnim etanolom. Slijedi priprema otopina za izradu baždarnog dijagrama.

Baždarni dijagram prikazuje ovisnost apsorbancije o koncentraciji Troloxa, pri čemu su koncentracije poznate te navedene u uputama partnera projekta. Za pripremu otopina standarda koriste se koncentracije od 25, 50, 100, 200 i 250  $\mu\text{M}$  Troloxa koje se otapaju u 96 %-tnom etanolu. Reakcija se postavlja na način da se odpipetira 1850  $\mu\text{L}$  otopine DPPH te 150  $\mu\text{L}$  Troloxa. Za slijepu probu, koja se radi u 3 paralele, umjesto 150  $\mu\text{L}$  Troloxa koristi se 70 %-tni etanol. Za pripremu 70 %-tnog etanola potrebno je razrijediti 96 %-tni etanol.

Volumen potrebnog etanola računa se prema sljedećoj formuli:

$$C_1 \cdot V_1 = C_2 \cdot V_2 \quad [2]$$

Pri čemu  $V_1$  predstavlja volumen 96 %-tnog etanola koji je potrebno dodati te nadopuniti destiliranom vodom kako bi se dobio 70 %-tni etanol.

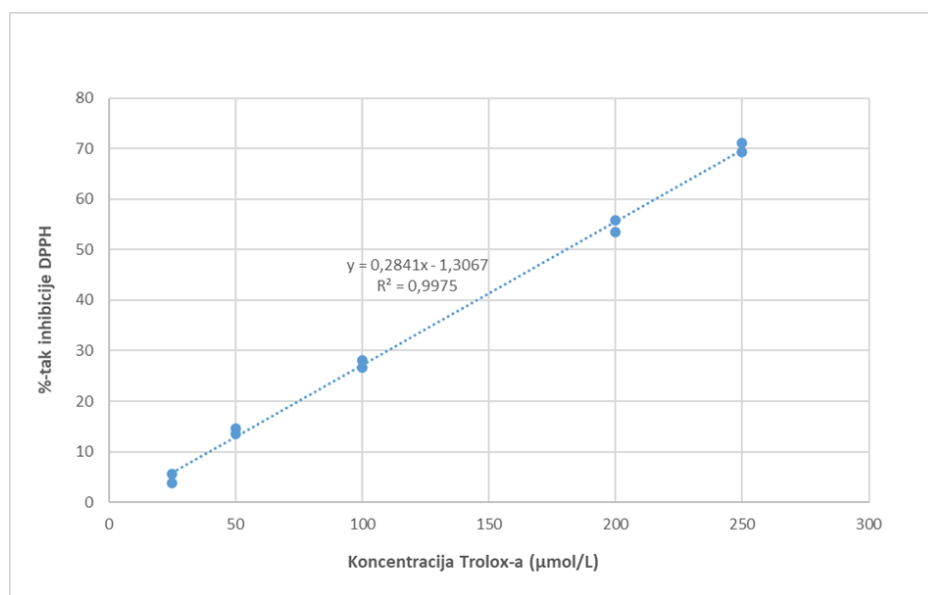
Nakon dodavanja otopine DPPH te otopine Troloxa, odnosno etanola za slijepu probu, potrebno je provesti reakciju u tami tijekom 30 minuta. Nakon isteka vremena slijedi određivanje apsorbancije na 515 nm pomoću spektrofotometra gdje se za svaki uzorak postavljaju 3 mjerenja te na kraju uzima srednja vrijednost.

Kako bi se izračunao postotak inhibicije DPPH koristi se sljedeća formula:

$$\% \text{ inhibicije DPPH} = \left( \frac{A_0 - A_1}{A_0} \right) * 100 \quad [3]$$

$A_0$  odnosi se na apsorbanciju slijepa probe, dok  $A_1$  predstavlja apsorbanciju uzorka.

Sljedeći korak jest izrada baždarnog dijagrama u programu Microsoft Excel 365 gdje y-os predstavlja izračunati % inhibicije DPPH, dok se na x-osi nalaze poznate koncentracije standarda Troloxa u  $\mu\text{M}$ . Baždarni dijagram prikazan je na slici 1.



**Slika 1.** Ovisnost %-tka inhibicije DPPH o koncentraciji Troloxa®

Jednadžba pravca:

$$y = 0,2841x - 1,3067 \quad R^2 = 0,9975 \quad [4]$$

Uz % inhibicije te koncentraciju Troloxa®, jednadžba baždarnog dijagrama prikazuje i koeficijent determinacije što je označeno kao  $R^2$ .

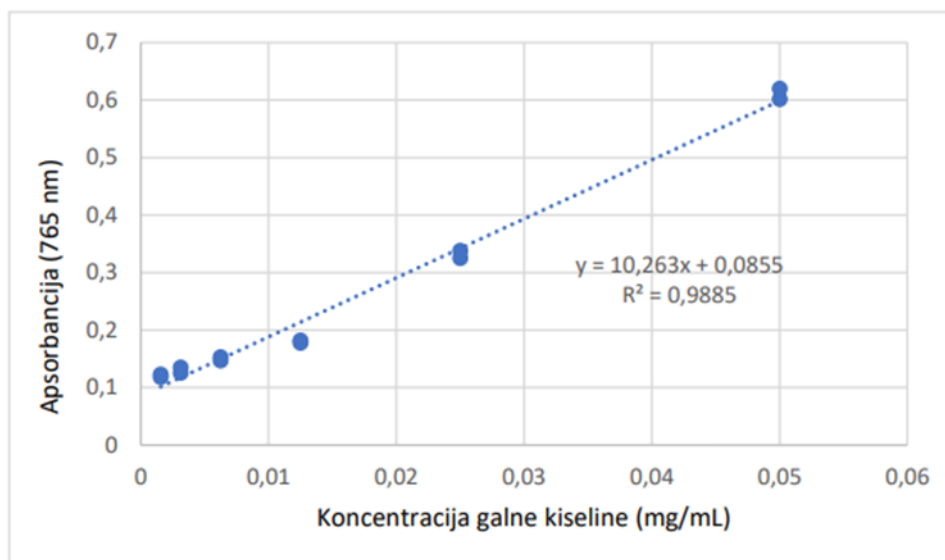
Kako bi se odredila antioksidacijska aktivnost uzoraka soka odnosno sosa rajčice s dodatkom CBD-a, potrebno je najprije pripremiti uzorke kako bi bili pogodni za reakciju. Uzorci se pripremaju na način da se na tehničkoj vagi u Falcon epruveti izvaže 2 g uzorka rajčice s dodatkom CBD-a te doda 15 mL 70 %-tnog etanola. Uzorci se zatim homogeniziraju 30 sekundi do 1 minute koristeći ručni homogenizator pri 14000 rpm. Nakon toga, uzorke je potrebno centrifugirati kroz 5 minuta na 5000 rpm koristeći Eppendorf 5430 centrifugu. Nakon centrifugiranja jasno se vidi izdvojeni supernatant čiji se volumen odvaja za reakciju. Tako pripremljen uzorak može se po potrebi i skladištiti na  $-20\text{ }^\circ\text{C}$ . Slijedi postavljanje reakcije na jednak način kao i za pripremu baždarnog dijagrama gdje se umjesto Troloxa®, u Eppendorf epruvetu s DPPH otopinom, dodaje dobiveni uzorak. Pri tome treba obratiti pažnju na otopinu DPPH koju je potrebno svježe pripremiti i čuvati u hladnjaku bez prisustva svjetla. Nakon reakcije slijedi mjerenje na spektrofotometru na valnoj duljini od 515 nm. Izračun % inhibicije vrši se uz pomoć formule [3], dok se izračunati postotak koristi u jednadžbi [4]. Iz jednadžbe [4] dobiva se informacija o antioksidacijskoj aktivnosti izraženoj kao  $\mu\text{M}$  ET, odnosno

ekvivalent Troloxa®. S obzirom da se vrijednosti apsorbancije kreću između 0 i 1, mjerenja koja pokazuju veće vrijednosti od 1 potrebno je ponoviti te po potrebi razrijediti te kasnije pomnožiti faktorom razrjeđenja prilikom računanja.

### 3.2.6. Određivanje ukupnih polifenola

Određivanju koncentracije ukupnih polifenola također prethodi izrada baždarnog dijagrama. U ovom se slučaju ne koristi Trolox®, već standard galne kiseline točno određene koncentracije. Reakcije su postavljene prema uputama partnera projekta pri čemu su korištena modificirana metoda Singletona i Rossija (1965). Na početku je potrebno pripremiti otopine standarda galne kiseline otapajući galnu kiselinu u 70 %-tnom etanolu do postizanja koncentracije od 0,1 mg/mL. Iz polazne otopine galne kiseline pripremljeni su standardi u koncentracijama od 0,05; 0,025; 0,0125; 0,00625; 0,003125 i 0,0015625 mg/mL. Potom slijedi priprema otopine A i otopine B. Otopina A priprema se na način da se otpipetira 10 mL Folin – Ciocalteu reagensa u Falcon epruvetu te nadopuni s 90 mL destilirane vode te vorteksira. Otopina B priprema se kvantitativnim prenošenjem 7,5 g bezvodnog natrijeva karbonata u odmjernu tikvicu od 100 mL pri čemu je tikvicu potrebno nadopuniti destiliranom vodom do oznake. Slijedi postavljanje reakcije.

Za postavljanje reakcije potrebno je u Eppendorf epruvete redom otpipetirati 200 µL otopine galne kiseline, 800 µL otopine A i 1000 µL otopine B. Sadržaj se vorteksira, a reakcija se odvija u tami 30 minuta. Za pripremu slijepe probe umjesto galne kiseline dodaje se 70 %-tni etanol. Nakon odvijanja reakcije slijedi centrifugiranje pri 5000 rpm tijekom 5 minuta u Eppendorf 5430 centrifugi. Apsorbancija se mjeri na 765 nm koristeći UV-Vis spektrofotometar. Koristeći program Microsoft Excel 365 dobiven je baždarni dijagram pri čemu y-os predstavlja izmjerenu apsorbanciju, a x-os poznate koncentracije standarda galne kiseline izražene u mg/mL (Slika 2).



**Slika 2.** Ovisnost apsorbancije o koncentraciji galne kiseline

Jednadžba baždarnog dijagrama glasi:

$$y = 10,263x + 0,0855 \quad R^2 = 0,9885 \quad [5]$$

Koeficijent determinacije označen je kao  $R^2$ .

Priprema uzoraka proizvoda na bazi rajčice s dodatkom CBD-a za reakciju provodi se na jednak način kao i za ispitivanje antioksidacijske aktivnosti što je opisano u potpoglavlju 3.2.6, a reakcija se provodi na isti način kao i kod izrade baždarnog dijagrama. Umjesto dodavanja galne kiseline, dodaje se supernatant dobiven centrifugiranjem uzorka. Na kraju, mjeri se apsorbancija uzoraka u dvije paralele čija se vrijednost upisuje u jednadžbu [5]. Konačan rezultat izražava se kao mg EGK/mL odnosno ekvivalenti galne kiseline.

### 3.2.7. Određivanje koncentracije pigmenata

Za određivanje koncentracije pigmenata koristi se metoda Nagatae i Yamashitae (1992) pri čemu se koncentracije različitih pigmenata određuju istovremeno. Na početku je potrebno izvagati 1 g uzorka proizvoda na bazi rajčice s dodatkom CBD-a u Falcon epruveti. Nakon toga se dodaje mješavina acetona i heksana u omjeru 2:3 u volumen od 10 mL. Sadržaj se homogenizira ručnim homogenizatorom pri 14000 rpm 30 sekundi do 1 minute pri čemu dolazi do automatskog razdvajanja faza te se supernatant uzima za provođenje reakcije. Supernatant se izravno pipetira u plastičnu kivetu te podvrgava mjerenju na spektrofotometru pri valnim duljinama od 663 nm, 645 nm, 505 nm i 453 nm. Slijepa proba umjesto uzorka sadrži

spomenutu smjesu acetona i heksana (2:3). Mjerenje se provodilo 5 puta te je na kraju izračunata srednja vrijednost istih.

Rezultat se uvrštava u sljedeće jednadžbe:

$$Likopen = -0,0458 * A_{663} + 0,204 * A_{645} + 0,372 * A_{505} - 0,0806 * A_{453} \quad [6]$$

$$Klorofil a = 0,999 * A_{663} - 0,0989 * A_{645} \quad [7]$$

$$Klorofil b = -0,328 * A_{663} + 1,77 * A_{645} \quad [8]$$

Slovo „A“ označava apsorbanciju, a indeks pored pripadajuću valnu duljinu. Koncentracija pigmenata izražava se kao mg/100 mL.

### 3.2.8. Mikrobiološka analiza

Mikrobiološka analiza provedena je od strane Centra za kontrolu namirnica (CKN) Prehrambeno – biotehnološkog fakulteta. CKN navodi kako je za potrebe ispitivanja korištena standardna oprema i materijal laboratorija što uključuje autoklav i hladnjak za pripremu i čuvanje podloga, vage za pripremu podloga i uzoraka, prikladne termostate za inkubaciju te adekvatno posuđe. Metode koje su se koristile spadaju pod standardne ISO metode te su navedene u Tablici 3. Za pripremu osnovnog razrjeđenja koristila se puferirana peptonska voda u omjeru 1:10. Osnovno razrjeđenje od  $10^{-1}$  inokulirano je na površinu hranjivih podloga, a nakon inkubacije su izbrojene porasle specifične kolonije. Rezultati su izraženi kao CFU/g uzorka.

Kako bi se izrazila redukcija ili povećanje mikroorganizama u odnosu na kontrolni uzorak, koristi se sljedeća formula:

$$\log \text{redukcije} = \log_{10} \left( \frac{\text{cfu kontrolnog uzorka}}{\text{cfu tretiranog uzorka}} \right) \quad [9]$$

**Tablica 3.** Mikrobiološke analize za određene mikroorganizme prema standardnim metodama

Mikroorganizam	Metoda	Inkubacija i vrijeme	Hranjiva podloga
<i>Escherichia coli</i>	HRN ISO 16649-2:2001	44 °C/ 24 h	TBX agar



**Tablica 3.** Mikrobiološke analize za određene mikroorganizme prema standardnim metodama  
- nastavak

<b>Aerobne mezofilne bakterije</b>	<b>HRN EN ISO 4833-1:2013</b>	<b>30 °C/ 72 h</b>	<b>PCA agar</b>
<b>Plijesni</b>	HRN ISO 21527-1:2012	25 °C/ 5 dana	DRBC agar
<b><i>Bacillus coagulans</i></b>	Prema Američkom društvu za mikrobiologiju	30 °C/ 3-5 dana	MRS agar + TSA agar

### 3.2.8.1 *Escherichia coli* i TBX agar

TBX (eng. *Tryptone-Bile-X-Glucuronate*) agar predstavlja podlogu selektivnu za mikroorganizam *Escherichia coli*. Za pripremu 1 L medija koristi se 20 g triptona, 1,5 g žučnih soli, 75 mg 5-bromo-4-kloro-3-indolil  $\beta$ -D-glukuronata (BCIG) i 9 g agara. Prema podacima tehničkog lista dostavljenog od strane CKN-a, reakcija se temelji na posjedovanju  $\beta$ -D-glukoronidaze u bakteriji *Escherichia coli*, pri čemu ona cijepa spomenuti BCIG te uzrokuje pojavu plave boje kolonija. Pripremljeni medij je potrebno zagrijati do vrenja uz miješanje, a nakon toga prenijeti u već odabrano posuđe te sterilizirati u autoklavu na 121 °C, 15 minuta. Medij se kasnije čuva na temperaturi od 47 do 50 °C.

Inokulacija se vrši na način da se 1 mL uzorka prenese na Petrijevu zdjelicu, a potom doda 15 mL TBX-a. Takva tehnika naziva se eng. *Pour plate inoculation*. Inkubacija se vrši u uvjetima navedenih u Tablici 3, nakon čega slijedi brojanje plavih do zeleno-plavih kolonija.

### 3.2.8.2. Aerobne mezofilne bakterije i PCA agar

PCA (eng. *Plate Count Agar*) agar koristi se u mikrobiologiji za brojanje aerobnih mezofilnih bakterija u mlijeku, mesu, kozmetici, farmaceutici i slično. Za pripremu 1 L medija koristi se 5 g triptona, 2,5 g kvašćevog ekstrakta, 1 g glukoze i 12 g agara. Slijede jednaki postupci pripreme prethodno opisani u potpoglavlju 3.2.9.1. uz PCA agar te jednaka *Pour plate* metoda osim što se u ovom slučaju može dodati još 4 mL sterilnog agara po potrebi te je vrijeme inkubacije drugačije te navedeno u Tablici 3.

### 3.2.8.3. *Bacillus coagulans* i MRS i TSA agar

Za pripremu MRS (De Man, Rogosa i Sharpe) agara koristi se 10 g/L univerzalnog peptona, 20 g/L D-glukoze, 5 g/L mesnog ekstrakta te jednaku koncentraciju kvašćevog ekstrakta. Potom 2 g/L dikalijevog fosfata te toliko i diamonijevog hidrogen citrata. Zatim 5 g/L natrijevog acetata, 0,1 g/L magnezijevog sulfata 0,05 g/L manganovog sulfata te 12 g/L agara. Smjesa se otapa u destiliranoj vodi te se dodaje Tween 80 u volumenu od 1 mL te nadopunjava do 1 L. Slijedi već spomenut proces kuhanja te autoklaviranja.

Za pripremu 1 L TSA (eng. *Tryptic Soy Agar*) agara koristi se 15 g tripton peptona, 5 g Phyton peptona, 5 g natrijevog klorida te 15 g agara. Slijedi postupak kuhanja i autoklaviranja.

Za provođenje inkubacije potrebno je nanijeti 0,1 mL uzorka na podlogu. Uzorak se nanosi na oba navedena agara, na MRS za brojanje, a na TSA kako bi se potvrdilo da se zaista radi o toj bakteriji.

### 3.2.8.4. *Plijesni* i DRBC agar

DRBC (eng. *Dichloran-Rose Bengal Chloramphenicol*) agar specifičan je agar za kvasce i plijesni. Sastoji se od 10 g/L D-glukoze, 5 g/L peptona, 1 g/L monokalijeva fosfata, 1 g/L magnezijeva sulfata, 0,002 g/L diklorana, 0,025 g/L rose bengal boje, 0,1 g/L kloramfenikola te 12 do 15 g/L agara. Ponovno slijedi kuhanje te autoklaviranje, a nakon toga inokulacija 1 mL uzorka na površini agara te inkubacije i brojanje poraslih kolonija.

## 3.3. OBRADA REZULTATA

Dobiveni rezultati obrađeni su u programu Microsoft Excel 365.

## 4. REZULTATI I RASPRAVA

U ovom radu provedena su 2 toplinska tretmana te 2 ultrazvučna tretmana, na uzorcima soka i sosa od rajčice s dodatkom CBD-a. CBD je u ovom radu dodan zbog ranije opisanih svojstava povoljnih na ljudsko zdravlje. Tretman koji je odabran jest ultrazvuk jer predstavlja zelenu tehniku obrade hrane. Metode koje su uspoređene s ultrazvukom jesu toplinski tretman i *hot break* tretman.

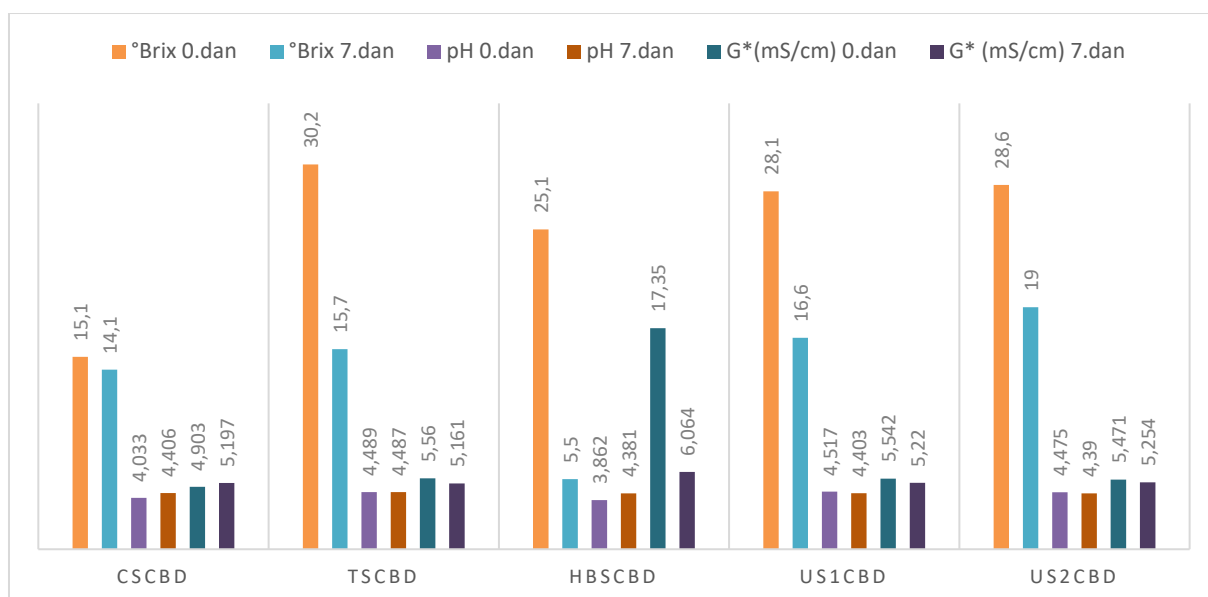
Ispitivan je utjecaj navedenih tretmana i vremena skladištenja na fizikalne parametre poput pH, stupnjeva Brix-a te električne vodljivosti. Nadalje, ispitan je i utjecaj na koncentraciju ukupnih polifenola i pigmenata te na antioksidacijsku aktivnost. Provedena je usporedba između tretmana te usporedba ovisna o vremenu skladištenja uzoraka. Svi su rezultati prikazani tablično.

### 4.1. UTJECAJ I USPOREDBA TRETMANA I VREMENA SKLADIŠTENJA NA FIZIKALNO-KEMIJSKE PARAMETRE

#### 4.1.1. Utjecaj tretmana na fizikalne parametre

##### 4.1.1.1. Utjecaj tretmana na fizikalne parametre sosa od rajčice s dodatkom CBD-a

Rezultati mjerenja fizikalnih parametara sosa od rajčice s dodatkom CBD-a prikazani su grafički na slici 3. Rezultati prikazuju pH vrijednosti, električnu vodljivost (G) te °Brix-a netretiranih uzoraka te uzoraka tretiranih ultrazvukom visokog intenziteta, *hot break-om* te toplinskim tretmanom. Mjerenja su izvršena na dan pripreme te nakon 7 dana skladištenja pri temperaturi od 4 °C.



**Slika 3.** Grafički prikaz rezultata mjerenja fizikalnih parametara uzoraka sosa od rajčice s dodatkom CBD-a nultog i sedmog dana skladištenja

\*G – električna vodljivost

CBD – kanabidiol; CSCBD - netretirani uzorak sosa rajčice s dodatkom CBD-a; TSCBD – uzorak sosa rajčice s dodatkom CBD-a tretiran toplinskim tretmanom; HBSCBD – uzorak sosa rajčice s dodatkom CBD-a tretiran *hot break* tretmanom; US1CBD – uzorak sosa rajčice s dodatkom CBD-a tretiran ultrazvukom visokog intenziteta pri amplitudi od 75 %; US2CBD – uzorak sosa rajčice s dodatkom CBD-a tretiran ultrazvukom visokog intenziteta pri amplitudi od 100 %

Iz grafičkog prikaza je vidljivo kako u svim tretiranim uzorcima dolazi do povećanja vrijednosti °Brix-a. Najveće povećanje zabilježeno je u uzorku podvrgnutom toplinskom tretmanu te ono iznosi 100 %. Sličnu pojavu bilježe Mukhtar i sur. (2022) provodeći toplinski tretman pri 70 °C tijekom 10 minuta te 85 °C tijekom 30 sekundi, na uzorku soka šećerne trske. Također, povećanje temperature uzrokuje isparavanje vode pri čemu dolazi do koncentriranja uzorka te posljedično povećanje °Brix-a (Baltacıoğlu, 2022). Uspoređujući amplitude pri kojima je proveden ultrazvuk, vidljivo je kako među njima nema značajne razlike u vrijednostima stupnjeva Brix-a. Povećanje stupnjeva Brix-a nakon tretmana ultrazvukom zabilježeno je i na uzorcima soka od mrkve u radu Zoua i Jianga (2016). Autori tretman provode u ultrazvučnoj kupelji pri snazi od 0,5 W/cm<sup>2</sup> te frekvenciji od 40 kHz. Povećanje °Brix-a pripisuju povećanoj efikasnosti ekstrakcije uslijed djelovanja ultrazvuka. Rezultati mjerenja pokazuju kako se stupnjevi Brix-a povećavaju nakon *hot break* tretmana. Istraživanjem svojstava sosa od rajčice Koh i sur. (2011) primjećuju istu pojavu nakon provođenja *hot break* tretmana. Tretman je proveden pri temperaturi od 93 °C tijekom 5 minuta. Nakon 7 dana skladištenja dolazi do smanjenja °Brix-a u svim uzorcima. Jha i sur. (2012) zabilježili su

smanjenje stupnjeva Brix-a na uzorku pirea jabuke tijekom vremena skladištenja. Razlog tome je potencijalna konverzija šećera u škrob čime pire postaje manje sladak.

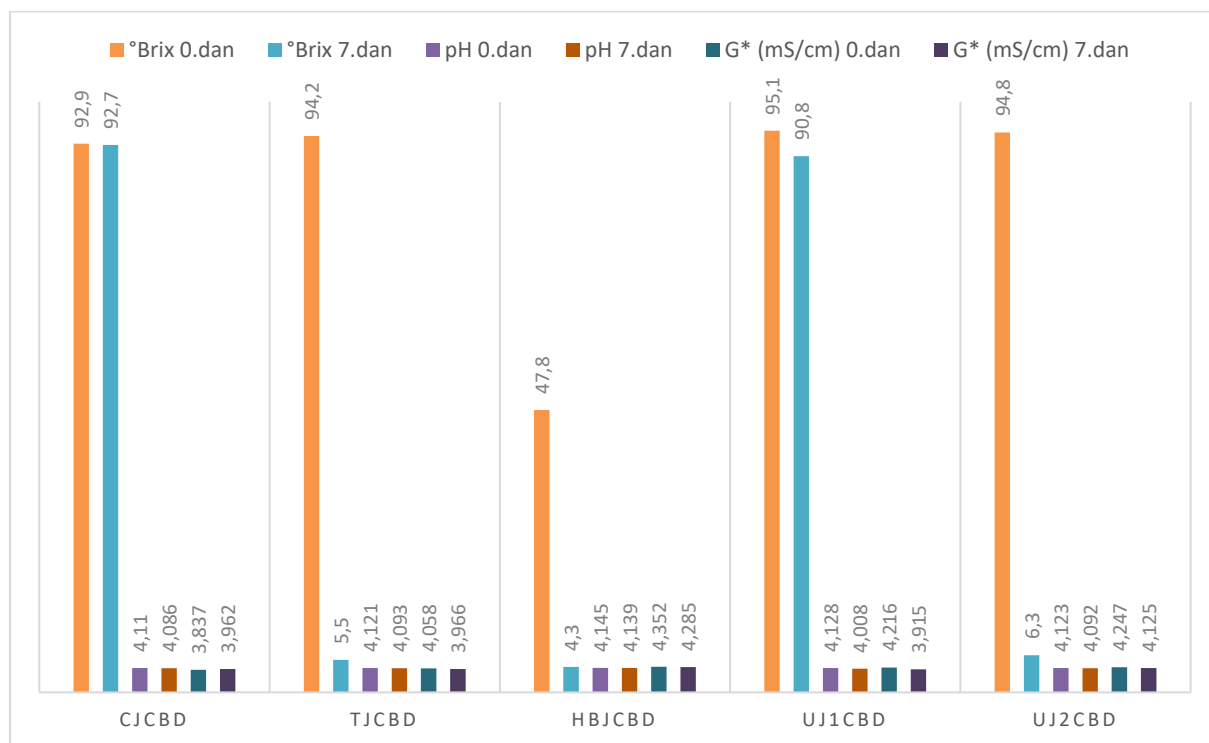
pH vrijednosti se u tretiranim uzorcima povećavaju, osim kod uzorka tretiranog *hot breakom* gdje se ista smanjuje. Povećanje pH vrijednosti može se pripisati hidrolizi nekih polisaharida u disaharide pri čemu dolazi do povećanja slatkoće te smanjenja kiselosti što u svojem radu dokazuju Rehman i sur. (2014) proučavajući voćne koncentrate. Najveće povećanje javlja se u uzorku tretiranim ultrazvukom te ono iznosi 12 %. Uspoređujući pH vrijednosti među amplitudama ultrazvučnog tretmana, vidljivo je kako je pH veći u uzorku tretiranom pri amplitudi od 75 % te to povećanje, u odnosu na amplitudu od 100 %, iznosi 0,93 %. Kako bi se umanjila mogućnost kvarenja, pH proizvoda od rajčice ne bi smio biti viši od 4,4, stoga i minimalna povećanja iznad te razine utječu na mikrobiološku stabilnost (Aykas i sur., 2020). Podaci iz literature također pokazuju povećanje pH vrijednosti nakon toplinskog tretmana pri 5, 10 i 15 minuta, na temperaturama od 50 °C i 70 °C. Istraživanja su se provodila na soku biljke noni. Razlog tome je što pri visokim temperaturama dolazi do gubitka organskih kiselina što smanjuje ukupnu kiselost medija te shodno dolazi i do povećanja pH vrijednosti (Maskat i Tan, 2011). Tijekom skladištenja uzoraka uočavaju se neznatne promjene u pH. Slično opisuju Dhansu i sur. (2023) u soku šećerne trske.

Uspoređujući električnu vodljivost uzoraka, vidljivo je kako je vodljivost veća nakon provođenja tretmana. Najveće povećanje javlja se u uzorku tretiranim *hot break-om* te iznosi 254 %. Povećanjem temperature dolazi do povećanja pokretljivosti iona pri čemu dolazi do povećanja vodljivosti u mediju (Icier i Ilicali, 2005). Povećanje električne vodljivosti ultrazvučnog tretmana pripisuje se otpuštanju minerala i vitamina iz stanica gdje tretman potpomaže oslobađanju istih (Zou i Jiang, 2016). Povećanje vrijednosti električne vodljivosti toplinskog tretmana javlja se nakon izlaganja medija visokim temperaturama što uzrokuje promjene u strukturi makromolekula te olakšava otpuštanje minerala. Takva je pojava zamijećena u toplinskom tretmanu pirea jagode (Cheng i sur., 2014). Tretman je proveden na temperaturi od 90 °C tijekom 60 sekundi. Nakon 7 dana skladištenja dolazi do smanjenja vodljivosti u tretiranim uzorcima te do povećanja u kontrolnom uzorku. Najveće smanjenje zabilježeno je u uzroku tretiranim *hot break – om* te iznosi 65 %.

#### 4.1.1.2. Utjecaj tretmana na fizikalne parametre soka od rajčice s dodatkom CBD-a

Rezultati mjerenja fizikalnih parametara soka od rajčice s dodatkom CBD-a prikazani su grafički na slici 4. Rezultati prikazuju pH vrijednosti, električnu vodljivost (G) te °Brix-a netretiranih uzoraka te uzoraka tretiranih ultrazvukom visokog intenziteta, *hot break-om* te

toplinskim tretmanom. Mjerenja su izvršena na dan pripreme te nakon 7 dana skladištenja pri temperaturi od 4 °C.



**Slika 4.** Grafički prikaz rezultata mjerenja fizikalnih parametara uzoraka soka od rajčice s dodatkom CBD-a nultog i sedmog dana skladištenja

\*G - električna vodljivost

CBD – kanabidiol; CJCBD - netretirani uzorak soka rajčice s dodatkom CBD-a; TJCBD – uzorak soka rajčice s dodatkom CBD-a tretiran toplinskim tretmanom; HBJCBD – uzorak soka rajčice s dodatkom CBD-a tretiran *hot break* tretmanom; UJ1CBD – uzorak soka rajčice s dodatkom CBD-a tretiran ultrazvukom visokog intenziteta pri amplitudi od 75 %; UJ2CBD – uzorak soka rajčice s dodatkom CBD-a tretiran ultrazvukom visokog intenziteta pri amplitudi od 100 %

Iz grafičkog prikaza je vidljivo kako se °Brix-a neznatno povećavaju nakon tretiranja u svim uzorcima osim u slučaju uzorka HBJCBD. Ovdje dolazi do smanjenja vrijednosti, a isto se javlja i u svim skladištenim uzorcima. Najveće smanjenje zabilježeno je kod uzorka tretiranim toplinskim tretmanom te ono iznosi 94 %. Smanjenje °Brixa nakon procesiranja i tijekom skladištenja javlja se u sokovima zbog Maillardovih reakcija te oksidacijskih reakcija (Silva i sur., 2020).

pH uzoraka povećava se nakon tretiranja, no ta povećanja nisu značajna. Neznačajne promjene pH bilježe Silva i sur. (2020) tretirajući sok naranče ultrazvukom visokog inteziteta pri frekvenciji od 20 kHz tijekom 10 minuta na maksimalnoj temperaturi od 51 °C. Tijekom skladištenja dolazi do smanjenja pH vrijednosti kod svih uzoraka. Smanjenje pH oprečno je rezultatima studija Singha i Sharmae (2017) gdje skladištenjem dolazi do povećanja pH. Naime,

u sastavu voćnih i povrtnih sokova prisutne su organske kiseline koje se tijekom skladištenja degradiraju u šećere i soli, što rezultira povećanjem pH. Također, visoka temperatura procesiranja može dodatno ubrzati spomenutu degradaciju. Time se navedeni rezultati ne poklapaju s rezultatima prikazanim na slici 4.

Električna vodljivost se tretiranjem povećava u svim uzorcima. Najveće povećanje zabilježeno je u uzorku HBJCBD te iznosi 13,5 %. Proučavajući fizikalna svojstva soka jabuke nakon pasterizacije i hladnog prešanja, uočeno je kako veća temperatura pridonosi povećanju električne vodljivosti. Pasterizacija se provodila pri temperaturi od 90 °C tijekom 10 minuta (Ghinea i sur., 2022). Nakon 7 dana skladištenja dolazi do smanjenja vodljivosti u svim uzorcima, osim u kontrolnom uzorku gdje dolazi do povećanja. Povećanje tijekom skladištenja se može pripisati lipofilnom CBD-u prisutnom u soku rajčice. Naime, Tarko i Tuszyński (2007) navode kako zbog lipofilnih spojeva prisutnih u mediju, tijekom skladištenja, dolazi do aglomeracije kapljica lipida u veće skupine. Time dolazi do lakšeg kretanja iona u mediju.

#### 4.1.2. Utjecaj tretmana na koncentraciju ukupnih polifenola

##### 4.1.2.1. Utjecaj tretmana na koncentraciju ukupnih polifenola u sosu rajčice s dodatkom CBD-a

Rezultati mjerenja koncentracije ukupnih polifenola prikazani su u Tablici 4. Mjerenja su izvršena na kontrolnom uzorku te uzorcima tretiranim ultrazvukom visokog intenziteta, *hot break-om* te toplinskim tretmanom na dan pripreme te nakon 7 dana skladištenja.

**Tablica 4.** Rezultati mjerenja koncentracije ukupnih polifenola u sosu rajčice s dodatkom CBD-a nultog i sedmog dana skladištenja

Uzorak	Ukupni polifenoli (mg EGK/mL)	
	0. dan	7. dan
CSCBD	0,164 ± 0,001	0,101 ± 0,002
TSCBD	0,146 ± 0,002	0,097 ± 0,001
HBSCBD	0,111 ± 0,003	0,052 ± 0,000
US1CBD	0,347 ± 0,002	0,323 ± 0,001
US2CBD	0,322 ± 0,002	0,298 ± 0,001

CBD – kanabidiol; EGK- ekvivalenti galne kiseline; CSCBD - netretirani uzorak sosa rajčice s dodatkom CBD-a; TSCBD – uzorak sosa rajčice s dodatkom CBD-a tretiran toplinskim tretmanom; HBSCBD – uzorak sosa rajčice s dodatkom CBD-a tretiran *hot break* tretmanom;

**Tablica 4.** Rezultati mjerenja koncentracije ukupnih polifenola u sosu rajčice s dodatkom CBD-a nultog i sedmog dana skladištenja – *nastavak*

US1CBD – uzorak sosa rajčice s dodatkom CBD-a tretiran ultrazvukom visokog intenziteta pri amplitudi od 75 %; US2CBD – uzorak sosa rajčice s dodatkom CBD-a tretiran ultrazvukom visokog intenziteta pri amplitudi od 100 %

Iz rezultata prikazanih u Tablici 4 vidljivo je kako u uzorcima tretiranim toplinskim tretmanom te *hot break-om* dolazi do smanjenja koncentracije ukupnih polifenola, dok kod uzoraka tretiranih ultrazvukom dolazi do povećanja. Ma i sur. (2008) u radu dokazuju kako ultrazvučni tretman može izazvati takve efekte te djelovati povoljno na koncentraciju ukupnih polifenola, što je primijećeno na ekstraktima kore citrusa. Ultrazvučna ekstrakcija je provedena pri temperaturi od 30 °C, snazi od 4 W i vremenu od 10 minuta. Povećanje koncentracije ukupnih polifenola povezano je s kavitacijom odnosno nastankom kavitacijskih mjehurića gdje dolazi do lokalnog oslobađanja velike količine mehaničke i toplinske energije, stvarajući lokalne turbulencije i porast temperature. Takva pojava omogućuje da se otpuštaju polifenoli koji su čvrsto vezani u matriksu (Alcántara i sur., 2020). Usporedbom amplituda ultrazvučnog tretmana vidljivo je kako je koncentracija ukupnih polifenola veća u uzorku tretiranom pri amplitudi od 75 %. Zapažanje istog ne podudara se s podacima iz literature. Oroian i sur. (2020) provode ultrazvučni tretman na propolisu u svrhu ekstrakcije bioaktivnih komponenti. Ekstrakcija se provodila pri amplitudama od 20, 60 i 100 % te na temperaturama od 35 °C, 50 °C i 65 °C. Pri svakom povećanju amplitude zabilježeno je povećanje koncentracije ukupnih polifenola na svakoj ispitivanoj temperaturi. Autori objašnjavaju kako s porastom amplitude dolazi do nastanka većeg broja kavitacijskih mjehurića što rezultira većim prinosom ekstrakcije, a time i većom koncentracijom ukupnih polifenola u uzorku.

*Hot break* tretman također utječe na koncentraciju ukupnih polifenola, točnije koncentracija se provođenjem tretmana smanjuje. Provođenjem tretmana pri visokoj temperaturi dolazi do oksidativne degradacije polifenola koji dovode do formiranja reaktivnog O-kinona te autokatalitičke reakcije odnosno fenolne oksidacije proizvoda. Druga pojava koja je također moguća jest hidroliza konjugiranih struktura. Smanjenje ukupnih polifenola javlja se i nakon provođenja *hot break* tretmana na temperaturi od 97 °C do 102 °C pri proizvodnji koncentrata od rajčice (Vallverdú-Queralt i sur., 2012).

Iz Tablice 4 vidljivo je kako se koncentracija ukupnih polifenola smanjuje nakon toplinskog tretmana u odnosu na kontrolni uzorak. Visoka temperatura može negativno



djelovati na sadržaj ukupnih polifenola, no postotak redukcije ovisi o temperaturi i vremenu tretiranja. Visoka temperatura tijekom vremena može uzrokovati cijepanje esterske veze što negativno utječe na sastav polifenola (Xu i sur., 2007).

Tijekom skladištenja dolazi do smanjenja koncentracije ukupnih polifenola u svim uzorcima. Skladištenjem na 4 °C, odnosno jednakoj temperaturi skladištenja svih uzoraka navedenih u ovom radu, uočeno je smanjenje koncentracije ukupnih polifenola na uzorku svježije azijske trešnje djelovanjem enzima polifenol oksidaze koja reagira s fenolnim spojevima te uzrokuje katalitički proces gdje kao produkti nastaju kinoni (Deng i sur., 2018). Polifenol oksidaza često se javlja u proizvodima od voća i povrća te je njezino djelovanje zabilježeno i u sosu rajčice gdje uzrokuje promjene u okusu, teksturi, boji i nutrijentima (Mantovani i Clemente, 2010).

#### 4.1.2.2. Utjecaj tretmana na koncentraciju ukupnih polifenola u soku rajčice s dodatkom CBD-a

Rezultati mjerenja koncentracije ukupnih polifenola prikazani su u Tablici 5. Mjerenja su izvršena na kontrolnom uzorku te uzorcima tretiranim ultrazvukom visokog intenziteta, *hot break-om* te toplinskim tretmanom na dan pripreme te nakon 7 dana skladištenja.

**Tablica 5.** Rezultati mjerenja koncentracije ukupnih polifenola u soku rajčice s dodatkom CBD-a nultog i sedmog dana skladištenja

Uzorak	Ukupni polifenoli (mg EGK/mL)	
	0. dan	7. dan
<b>CJCBD</b>	0,294 ± 0,000	0,157 ± 0,000
<b>TJCBD</b>	0,391 ± 0,001	0,407 ± 0,001
<b>HBJCBD</b>	0,417 ± 0,001	0,405 ± 0,001
<b>UJ1CBD</b>	0,317 ± 0,001	0,321 ± 0,001
<b>UJ2CBD</b>	0,354 ± 0,000	0,327 ± 0,001

CBD – kanabidiol; EGK – ekvivalenti galne kiseline; CJCBD - netretirani uzorak soka rajčice s dodatkom CBD-a; TJCBD – uzorak soka rajčice s dodatkom CBD-a tretiran toplinskim tretmanom; HBJCBD – uzorak soka rajčice s dodatkom CBD-a tretiran *hot break* tretmanom; UJ1CBD – uzorak soka rajčice s dodatkom CBD-a tretiran ultrazvukom visokog intenziteta pri amplitudi od 75 %; UJ2CBD – uzorak soka rajčice s dodatkom CBD-a tretiran ultrazvukom visokog intenziteta pri amplitudi od 100 %

Iz Tablice 5 je vidljivo kako u svim tretiranim uzorcima dolazi do povećanja koncentracije ukupnih polifenola. Najveće povećanje zabilježeno je u uzorku tretiranim *hot*

*break-om* te iznosi 41, 8 %. Rezultati pokazuju drugačiji trend u odnosu na sos rajčice gdje dolazi do suprotne pojave. Ghafoor i sur. (2019) u radu proučavaju utjecaj visoke temperature na ekstraktu šljive. Šljiva je osušena na temperaturi od 60 °C, 80 °C, 90 °C, 110 °C te 130 °C, a za određivanje ukupnih polifenola provedena je metanolna ekstrakcija. Autori dolaze do zaključka kako viša temperatura uglavnom smanjuje koncentraciju ukupnih polifenola, no moguće je i povećanje koncentracije što ovisi o temperaturi, procesnim uvjetima te samoj strukturi voća. Na spomenutom uzorku šljive dolazi do povećanja koncentracije, no samo pri temperaturi od 80 °C.

Povećanje koncentracije ukupnih polifenola javlja se i u uzorcima tretiranim ultrazvukom. Proučavajući svojstva soka crnog ribizla, zabilježena je ista pojava prilikom provođenja ultrazvučnog tretmana tijekom 5 minuta. Razlog tome, uz već spomenutu kavitaciju, jest i stvaranje hidroksilnih radikala koji se mogu vezati na aromatski prsten polifenolnog spoja što rezultira pojavom drugačije kemijske strukture spoja. Folin – Ciocalteu reagens nije specifičan za određene polifenole te rezultati analize mogu pokazivati različite vrijednosti, odnosno i povećanje i smanjenje koncentracije (Kidoń i Narasimhan, 2022).

Nakon 7 dana skladištenja dolazi do smanjenja koncentracije ukupnih polifenola u kontrolnom uzorku te uzorcima tretiranim *hot break-om* i ultrazvukom pri amplitudi od 100 %. U preostala 2 uzorka dolazi do povećanja.

#### 4.1.3. Utjecaj tretmana na antioksidacijsku aktivnost

##### 4.1.3.1. Utjecaj tretmana na antioksidacijsku aktivnost sosa rajčice s dodatkom CBD-a

Rezultati mjerenja antioksidacijske aktivnosti prikazani su u Tablici 6. Mjerenja su izvršena na kontrolnom uzorku te uzorcima tretiranim ultrazvukom visokog intenziteta, *hot break-om* te toplinskim tretmanom na dan pripreme te nakon 7 dana skladištenja.

**Tablica 6.** Rezultati mjerenja antioksidacijske aktivnosti sosa rajčice s dodatkom CBD-a nultog i sedmog dana skladištenja.

Uzorak	Antioksidacijska aktivnost ( $\mu\text{mol ET/L}$ )	
	0. dan	7. dan
CSCBD	236,14 $\pm$ 2,21	131,35 $\pm$ 6,46
TSCBD	197,30 $\pm$ 9,46	109,69 $\pm$ 2,54
HBSCBD	164,63 $\pm$ 2,65	44,62 $\pm$ 13,78
US1CBD	462,13 $\pm$ 28,81	446,14 $\pm$ 12,57
US2CBD	658,35 $\pm$ 22,68	367,92 $\pm$ 34,65

CBD – kanabidiol; ET – ekvivalent Troloxa; CSCBD - netretirani uzorak sosa rajčice s dodatkom CBD-a; TSCBD – uzorak sosa rajčice s dodatkom CBD-a tretiran toplinskim tretmanom; HBSCBD – uzorak sosa rajčice s dodatkom CBD-a tretiran *hot break* tretmanom; US1CBD – uzorak sosa rajčice s dodatkom CBD-a tretiran ultrazvukom visokog intenziteta pri amplitudi od 75 %; US2CBD – uzorak sosa rajčice s dodatkom CBD-a tretiran ultrazvukom visokog intenziteta pri amplitudi od 100 %

Antioksidacijska aktivnost ne slijedi jednak trend u svim uzorcima. Povećanje aktivnosti javlja se u uzorcima tretiranim ultrazvukom, dok se u ostalim smanjuje. Najveća antioksidacijska aktivnost zabilježena je uzorku tretiranim ultrazvukom pri amplitudi od 100 % te povećanje istog u odnosu na kontrolni uzorak iznosi 178,9 %. Lafarga i sur. (2019) su istraživali utjecaj tretmana ultrazvukom na različitom povrću, također i na uzorku svježe rajčice. Svježa rajčica tretirana je u ultrazvučnoj kupelji pri temperaturi od 4 °C, frekvenciji od 40 kHz tijekom 20 minuta. Nakon toga je uzorak usitnjen te je uslijedila metanolna ekstrakcija, a zatim i određivanje antioksidacijske aktivnosti. Rezultati mjerenja pokazali su povećanje antioksidacijske aktivnosti nakon tretmana ultrazvukom za uzorak rajčice, tikvice te crvene paprike. Ipak, napominju kako se jednak trend ne može primijeniti za svako povrće, već antioksidacijska aktivnost nakon tretmana uvelike ovisi o vrsti povrća te postavljenim parametrima.

Ovom radu prethodi istraživanje gdje je provedena optimizacija parametara (Gavran, 2022) te je primijećeno kako amplituda ima značajan učinak na antioksidacijsku aktivnost sosa od rajčice te je ona najveća pri amplitudi od 100 %, što je u skladu s rezultatima navedenim u Tablici 6. Također, dodatak CBD-a koji je snažan antioksidans (Atalay i sur., 2020) također može imati utjecaj na značajno povećanje antioksidacijske aktivnosti.

Antioksidacijska aktivnost uzoraka tretiranih *hot break-om* opada u odnosu na kontrolni uzorak. Ranije je spomenuto kako su Vallverdú-Queralt i sur. (2012) određivali koncentraciju

ukupnih polifenola na uzorku koncentrata rajčice, no određivali su i antioksidacijsku aktivnost pri istim procesnim uvjetima. Istraživanje je pokazalo kako nakon tretmana dolazi do smanjenja antioksidacijske aktivnosti čime se rezultati navedenog istraživanja poklapaju s rezultatima iz Tablice 6.

Rezultati mjerenja pokazuju kako nakon provođenja toplinskog tretmana dolazi do redukcije antioksidacijske aktivnosti. Anese i sur. (2002) su određivali antioksidacijsku aktivnost sosa rajčice nakon toplinskog tretmana pri 90 °C tijekom 11 minuta. Istraživanja su pokazala kako visoka temperatura utječe na smanjenje antioksidacijske aktivnosti.

Skladištenjem uzoraka dolazi do smanjenja antioksidacijske aktivnosti u svim uzorcima. Bursać Kovačević i sur. (2019) prate antioksidacijsku aktivnost soka jabuke tretiranim ultrazvukom nakon 7 dana skladištenja pri 4 °C te također primjećuju redukciju u antioksidacijskoj aktivnosti. Navode kako tijekom akustične kavitacije dolazi do stvaranja slobodnih radikala koji mogu oksidirati polifenolne spojeve te posljedično djelovati na smanjenje antioksidacijske aktivnosti.

#### 4.1.3.2. Utjecaj tretmana na antioksidacijsku aktivnost soka rajčice s dodatkom CBD-a

Rezultati mjerenja antioksidacijske aktivnosti prikazani su u Tablici 7. Mjerenja su izvršena na kontrolnom uzorku te uzorcima tretiranim ultrazvukom visokog intenziteta, *hot break-om* te toplinskim tretmanom na dan pripreme te nakon 7 dana skladištenja.

**Tablica 7.** Rezultati mjerenja antioksidacijske aktivnosti soka rajčice s dodatkom CBD-a nultog i sedmog dana skladištenja

Uzorak	Antioksidacijska aktivnost (μmol ET/L)	
	0. dan	7. dan
<b>CJCBD</b>	475, 58 ± 35,98	534, 37 ± 3,46
<b>TJCBD</b>	624, 27 ± 25,60	657, 18 ± 21,04
<b>HBJCBD</b>	555,08 ± 9,70	404, 80 ± 145,25
<b>UJ1CBD</b>	543, 68 ± 25,76	972, 43 ± 8,39

**Tablica 7.** Rezultati mjerenja antioksidacijske aktivnosti soka rajčice s dodatkom CBD-a nultog i sedmog dana skladištenja – *nastavak*

<b>UJ2CBD</b>	<b>555,26 ± 57,51</b>	<b>588,84 ± 28,70</b>
---------------	-----------------------	-----------------------

CBD – kanabidiol; ET-ekvivalent Troloxa; CJCBD - netretirani uzorak soka rajčice s dodatkom CBD-a; TJCBD – uzorak soka rajčice s dodatkom CBD-a tretiran toplinskim tretmanom; HBJCBD – uzorak soka rajčice s dodatkom CBD-a tretiran *hot break* tretmanom; UJ1CBD – uzorak soka rajčice s dodatkom CBD-a tretiran ultrazvukom visokog intenziteta pri amplitudi od 75 %; UJ2CBD – uzorak soka rajčice s dodatkom CBD-a tretiran ultrazvukom visokog intenziteta pri amplitudi od 100 %

Iz rezultata mjerenja vidljivo je kako tretiranjem dolazi do povećanja antioksidacijske aktivnosti u svim uzorcima. Najveće povećanje u odnosu na kontrolni uzorak primijećeno je u uzorku tretiranim toplinskim tretmanom te ono iznosi 31,3 %. Povećanje antioksidacijske aktivnosti je zabilježeno i u radu Jeonga i sur. (2004) pri temperaturi od 50 °C tijekom 10 minuta na ekstraktu kore limuna. Autori navode kako visoka temperatura može osloboditi polifenole koji se nalaze u stanicama te posljedično povećati antioksidacijsku aktivnost.

Povećana antioksidacijska aktivnost zabilježena je i u uzorcima tretiranim ultrazvukom. Oladunjoye i sur. (2021) su određivali antioksidacijsku aktivnost soka mombinske šljive tretiranog ultrazvukom. Parametri procesa uključivali su tretman pri temperaturi od 40 °C u vremenu od 20 minuta te ultrazvučne frekvencije od 40 kHz. Rezultati su pokazali kako tretmanom dolazi do povećanja aktivnosti što se pripisuje većoj biodostupnosti polifenola.

Iako rezultati pokazuju povećanje antioksidacijske aktivnosti soka rajčice s dodatkom CBD-a, podaci iz literature navode suprotno. U radu Hsu (2008) navodi kako tretiranjem soka rajčice pri 60 °C tijekom 2 minute dolazi do smanjenja antioksidacijske aktivnosti.

Skladištenjem dolazi do povećanja antioksidacijske aktivnosti u svim uzorcima osim u onom tretiranim *hot break-om* gdje se smanjuje. Lin i sur. (2020) u istraživanju antioksidacijske aktivnosti soka gorke dinje, tijekom 24 dana skladištenja na temperaturi od 4 °C, dokazuju kako se s vremenom skladištenja antioksidacijska aktivnost smanjuje, a razlog tome javlja se zbog gubitka nutrijenata. Najveće povećanje zabilježeno je u uzorku tretiranim ultrazvukom pri amplitudi od 75 % te ono iznosi 78,8 %. Slična pojava zabilježena je i kod pirea maline tretiranim ultrazvukom pri frekvenciji od 20 kHz tijekom 30 minuta, u radu Golmohamadija i sur. (2013). Također, CBD smola posjeduje iznimnu stabilnost tijekom skladištenja, čak i do 2 godine na sobnoj temperaturi (Fairbairn i sur., 1976), što može omogućiti ovakvu pojavu.

#### 4.1.4. Utjecaj tretmana na koncentraciju biljnih pigmenata

##### 4.1.4.1. Utjecaj tretmana na koncentraciju biljnih pigmenata sosa rajčice s dodatkom CBD-a

Rezultati mjerenja koncentracije biljnih pigmenata prikazani su u Tablici 8. Mjerenja su izvršena na kontrolnom uzorku te uzorcima tretiranim ultrazvukom visokog intenziteta, *hot break-om* te toplinskim tretmanom na dan pripreme te nakon 7 dana skladištenja.

**Tablica 8.** Rezultati mjerenja koncentracije biljnih pigmenta sosa rajčice s dodatkom CBD-a nultog i sedmog dana skladištenja.

Uzorak	Likopen (mg/100 mL)		Klorofil a (mg/100 mL)		Klorofil b (mg/100 mL)	
	0. dan	7. dan	0. dan	7. dan	0. dan	7. dan
<b>CSCBD</b>	0,113 ± 0,000	0,081 ± 0,000	0,131 ± 0,000	0,074 ± 0,000	0,198 ± 0,000	0,103 ± 0,000
<b>TSCBD</b>	0,081 ± 0,000	0,080 ± 0,000	0,132 ± 0,000	0,073 ± 0,001	0,209 ± 0,000	0,102 ± 0,001
<b>HBSCBD</b>	0,084 ± 0,000	0,067 ± 0,000	0,139 ± 0,000	0,067 ± 0,000	0,209 ± 0,000	0,092 ± 0,000
<b>US1CBD</b>	0,192 ± 0,000	0,171 ± 0,000	0,136 ± 0,000	0,100 ± 0,000	0,205 ± 0,000	0,148 ± 0,001
<b>US2CBD</b>	0,160 ± 0,000	0,189 ± 0,000	0,132 ± 0,000	0,100 ± 0,000	0,199 ± 0,001	0,149 ± 0,001

CBD – kanabidiol; CSCBD - netretirani uzorak sosa rajčice s dodatkom CBD-a; TSCBD – uzorak sosa rajčice s dodatkom CBD-a tretiran toplinskim tretmanom; HBSCBD – uzorak sosa rajčice s dodatkom CBD-a tretiran *hot break* tretmanom; US1CBD – uzorak sosa rajčice s dodatkom CBD-a tretiran ultrazvukom visokog intenziteta pri amplitudi od 75 %; US2CBD – uzorak sosa rajčice s dodatkom CBD-a tretiran ultrazvukom visokog intenziteta pri amplitudi od 100 %

Iz rezultata mjerenja je vidljivo kako u uzorcima tretiranim ultrazvukom dolazi do povećanja koncentracije likopena, dok se u ostalim uzorcima smanjuje. Kumcuoglu i sur. (2014) navode kako ultrazvuk može značajno utjecati na koncentraciju likopena, odnosno povećati ju, međutim potrebno je oprezno i adekvatno postaviti ultrazvučne parametre. S obzirom da rezultati mjerenja nakon tretmana u ovom slučaju nisu značajno veći u odnosu na netretirani uzorak, potrebno je istraživanje provesti i pri drugačije postavljenim parametrima ultrazvučnog tretmana.

Koncentracija likopena se smanjuje nakon *hot break* tretmana. Sličnu pojavu bilježi Hsu (2008) na uzorku soka rajčice gdje *hot break* tretmanom tijekom 2 minute na 92 °C također dolazi do smanjenja koncentracije.

Toplinskim tretmanom također dolazi do smanjenja koncentracije likopena. Podaci iz literature navode kako povećanjem temperature može doći do smanjenja koncentracije likopena tijekom procesa evaporacije te sterilizacije sosa rajčice (Koh i sur.,2011). Likopen je osjetljiv na visoku temperaturu i svjetlo te je podložan oksidaciji čime se također utječe na njegovu koncentraciju (Anarjan, 2020).

Skladištenjem dolazi do smanjenja koncentracije likopena u svim uzorcima osim u onom tretiranim ultrazvukom pri amplitudi od 100 %. Li i sur. (2018) navode kako s vremenom skladištenja dolazi do smanjenja koncentracije likopena sosa rajčice, no pravilnim pakiranjem proizvoda može se značajno smanjiti brzina opadanja koncentracije istog.

Koncentracije klorofila a i b ne mijenjaju se nakon provođenja tretmana.

Skladištenjem dolazi do smanjenja koncentracije klorofila a i b u svim uzorcima. Jurić i sur. (2020) navode kako se klorofil a lako degradira djelovanjem enzima, kisika i kiselina pri čemu može doći do smanjenja njegove koncentracije.

#### 4.1.4.2. Utjecaj tretmana na koncentraciju biljnih pigmenata soka rajčice s dodatkom CBD-a

Rezultati mjerenja koncentracije biljnih pigmenata prikazani su u Tablici 9. Mjerenja su izvršena na kontrolnom uzorku te uzorcima tretiranim ultrazvukom visokog intenziteta, *hot break-om* te toplinskim tretmanom na dan pripreme te nakon 7 dana skladištenja.



**Tablica 9.** Rezultati mjerenja koncentracije biljnih pigmenata soka rajčice s dodatkom CBD-a nultog i sedmog dana skladištenja

Uzorak	Likopen (mg/100 mL)		Klorofil a (mg/100 mL)		Klorofil b (mg/100 mL)	
	0. dan	7. dan	0. dan	7. dan	0. dan	7. dan
<b>CJCBD</b>	0,068 ± 0,000	0,007 ± 0,000	0,101 ± 0,000	0,103 ± 0,001	0,147 ± 0,003	0,153 ± 0,002
<b>TJCBD</b>	0,125 ± 0,000	0,119 ± 0,000	0,146 ± 0,000	0,133 ± 0,000	0,218 ± 0,000	0,202 ± 0,000
<b>HBJCBD</b>	0,109 ± 0,000	0,108 ± 0,002	0,139 ± 0,000	0,145 ± 0,004	0,206 ± 0,000	0,221 ± 0,007
<b>UJ1CBD</b>	0,227 ± 0,000	0,151 ± 0,000	0,185 ± 0,000	0,183 ± 0,000	0,289 ± 0,001	0,269 ± 0,000
<b>UJ2CBD</b>	0,183 ± 0,000	0,213 ± 0,000	0,152 ± 0,000	0,158 ± 0,000	0,233 ± 0,000	0,242 ± 0,000

CBD – kanabidiol; CJCBD - netretirani uzorak soka rajčice s dodatkom CBD-a; TJCBD – uzorak soka rajčice s dodatkom CBD-a tretiran toplinskim tretmanom; HBJCBD – uzorak soka rajčice s dodatkom CBD-a tretiran *hot break* tretmanom; UJ1CBD – uzorak soka rajčice s dodatkom CBD-a tretiran ultrazvukom visokog intenziteta pri amplitudi od 75 %; UJ2CBD – uzorak soka rajčice s dodatkom CBD-a tretiran ultrazvukom visokog intenziteta pri amplitudi od 100 %

Iz rezultata mjerenja vidljivo je kako tretiranjem dolazi do povećanja koncentracije likopena u svim uzorcima. Najveće povećanje zabilježeno je u uzorku tretiranim ultrazvukom pri amplitudi od 75 % te ono iznosi 233,8 %. Nowak i sur. (2021) provode ultrazvučni tretman snage 200, 400 i 600 W na etanolnim ekstraktima višnje te navode kako ultrazvučni tretman povećava koncentraciju likopena u uzorku. Razlog tome je povoljnija ekstrakcija likopena te dopiranje do karotenoida koji su zarobljeni u stanicama te kromoplastima. Anarjan i sur. (2020) ispituju utjecaj ultrazvučnih parametara na likopen iz otpada procesirane rajčice. Amplitude ultrazvuka ispitivane su u rasponu od 70 % do 90 % te je utvrđeno kako amplituda od 70 % tijekom vremena tretiranja od 20 minuta, daje najveće povećanje koncentracije likopena, što se može povezati s rezultatima mjerenja iz Tablice 9.

Nakon toplinskih tretmana također dolazi do povećanja koncentracije likopena. Procesiranje visokom temperaturom povećava biodostupnost istog (Shi i sur., 2008). Također, podaci iz literature navode kako je likopen stabilan na temperaturama ispod 100 °C (Oliveira i sur., 2015).

Tijekom skladištenja dolazi do pada koncentracije u kontrolnom uzorku te uzorku tretiranim ultrazvukom pri amplitudi od 75 %, povećanja u uzorku tretiranim ultrazvukom pri amplitudi od 100 %, a do stagnacije u uzorku tretiranim toplinskim tretmanima. Stagnacija likopena prilikom skladištenja u uzorcima tretiranim na 91 °C javlja se i u radu Gupte i sur. (2010) koji su provodili istraživanje na soku rajčice. Pravilnom optimizacijom parametara postiže se stagnacija koncentracije likopena tijekom duljeg vremena skladištenja.

Koncentracija klorofila a povećava se kod tretiranih uzoraka, te se ista pojava uočava u slučaju klorofila b. Porast koncentracije klorofila a manje je značajan u odnosu na klorofil b. Najveće povećanje zabilježeno je klorofila a i klorofila b javlja se u uzorcima tretiranim ultrazvukom. Istu pojavu dokazuju i Seong i sur. (2023) gdje se potvrđuje hipoteza kako je tretman ultrazvukom abiotički čimbenik koji omogućuje nakupljanje funkcionalnih komponenti poput pigmenata, vitamina i flavonoida u raznim biljkama te povećanje istih.

Nakon 7 dana skladištenja nema značajnih promjena u koncentracijama klorofila a i b.

## 4.2. REZULTATI MIKROBIOLOŠKE ANALIZE

### 4.2.1. Rezultati mikrobiološke analize sosa rajčice s dodatkom CBD-a

U Tablici 10 prikazani su rezultati mikrobiološke analize uzoraka tretiranih ultrazvukom visokog intenziteta, *hot break-om* te toplinskim tretmanom nultog i sedmog dana skladištenja.

**Tablica 10.** Rezultati mikrobiološke analize sosa rajčice s dodatkom CBD-a nultog i sedmog dana skladištenja

Uzorak	<i>Escherichia coli</i> (CFU/g)		Aerobne mezofilne bakterije (CFU/g)		Plijesni (CFU/g)		<i>Bacillus coagulans</i> (CFU/g)	
	0. dan	7. dan	0. dan	7. dan	0. dan	7. dan	0. dan	7. dan
CSCBD	<10	<10	50	4,0*10 <sup>2</sup>	<10	10	<10	<10
TSCBD	<10	<10	4,0*10 <sup>2</sup>	4,0*10 <sup>2</sup>	<10	<10	<10	<10
HBSCBD	<10	<10	<10	<10	<10	10	<10	<10
US1CBD	<10	<10	<10	7,0*10 <sup>2</sup>	<10	<10	<10	<10
US2CBD	<10	<10	<10	1,0*10 <sup>4</sup>	<10	<10	<10	<10

CBD – kanabidiol; CFU – broj formiranih kolonija (eng. *Colony Forming Unit*); CSCBD - netretirani uzorak sosa rajčice s dodatkom CBD-a; TSCBD – uzorak sosa rajčice s dodatkom CBD-a tretiran toplinskim tretmanom; HBSCBD – uzorak sosa rajčice s dodatkom CBD-a tretiran *hot break* tretmanom; US1CBD – uzorak sosa rajčice s dodatkom CBD-a tretiran ultrazvukom visokog intenziteta pri amplitudi od 75 %; US2CBD – uzorak sosa rajčice s dodatkom CBD-a tretiran ultrazvukom visokog intenziteta pri amplitudi od 100 %

Bakterije *Escherichia coli* i *Bacillus coagulans*. nisu zamijećene niti u jednom uzorku u broju većem od 10 CFU/g istog dana pripreme, kao ni nakon 7 dana skladištenja.

S druge strane, aerobne mezofilne bakterije pojavljuju se u kontrolnom uzorku, međutim njihov se broj reducira provođenjem ultrazvučnog tretmana te je njihov broj tada manji od 10 CFU/g. Starek i sur. (2021) bilježe redukciju aerobnih mezofilnih bakterija nakon ultrazvučnog tretmana (pri 20 kHz tijekom 5 minuta) provedenom na soku od rajčice. Ipak, napominju kako redukcija mikroorganizama uvelike ovisi o postavljenim parametrima.

Nakon tretmana *hot break-om* dolazi do redukcije broja aerobnih mezofilnih bakterija u odnosu na kontrolni uzorak. Russell (2003) navodi kako visoke temperature mogu dovesti do

redukcije broja bakterija. Temperature od 90 °C uglavnom su letalne, osim ako se radi o sporogenim bakterijama.

Broj aerobnih mezofilnih bakterija se nakon toplinskog tretmana povećava. Ta pojava uočena je u radu Li i sur. (2021b) gdje zbog stresa uzrokovanog toplinom dolazi do redukcije nekih vrsta, dok druge preživljavaju zbog smanjenja kompetencije čime su im potrebni izvori rasta i razvoja dostupniji.

Tijekom skladištenja dolazi do povećanja broja aerobnih mezofilnih bakterija u kontrolnom uzorku, ali i u uzorcima tretiranim ultrazvukom. Broj aerobnih mezofilnih bakterija veći je nakon 7 dana skladištenja u uzorku tretiranim ultrazvukom pri amplitudi od 100 %. Broj bakterija stagnira u uzorku tretiranim *hot break-om* te toplinskim tretmanom.

Plijesni nisu zabilježene niti u jednom uzorku u broju većem od 10 CFU/g nultog dana skladištenja. Nakon 7 dana broj plijesni se povećava u kontrolnom uzorku te uzorku tretiranim *hot break-om*.

U Tablici 11 prikazani su rezultati redukcije broja mikroorganizama.

**Tablica 11.** Rezultati redukcije broja mikroorganizama u sosu rajčice s dodatkom CBD-a nultog dana skladištenja

Uzorak	Aerobne mezofilne bakterije (log CFU/g)
US1CBD 0.dan	0,7
US2CBD 0.dan	0,7
HBSCBD 0.dan	0,7

CBD – kanabidiol; CFU – broj formiranih kolonija (eng. *Colony Forming Unit*); US1CBD – uzorak sosa rajčice s dodatkom CBD-a tretiran ultrazvukom visokog intenziteta pri amplitudi od 75 %; US2CBD – uzorak sosa rajčice s dodatkom CBD-a tretiran ultrazvukom visokog intenziteta pri amplitudi od 100 %; HBSCBD – uzorak sosa rajčice s dodatkom CBD-a tretiran *hot break* tretmanom

Logaritam redukcije računa se za one uzorke u kojima je došlo do redukcije broja

mikroorganizama. Smanjenje broja bakterija se javlja se u uzorcima tretiranim ultrazvukom pri obje navedene amplitude te pri uzorku tretiranim *hot break* tretmanom.

Na slici 5 prikazani su kontrolni uzorci te uzorci nakon tretmana ultrazvukom (US1CBD, US2CBD), *hot break-om* (HBSCBD) te toplinskim tretmanom (TSCBD), sedmog dana skladištenja.



**Slika 5.** Kontrolni uzorak sosa rajčice s dodatkom CBD-a te tretirani uzorci sedmog dana skladištenja (*vlastita fotografija*)

CBD – kanabidiol; CSCBD - netretirani uzorak sosa rajčice s dodatkom CBD-a; US1CBD – uzorak sosa rajčice s dodatkom CBD-a tretiran ultrazvukom visokog intenziteta pri amplitudi od 75 %; US2CBD – uzorak sosa rajčice s dodatkom CBD-a tretiran ultrazvukom visokog intenziteta pri amplitudi od 100 %; TSCBD – uzorak sosa rajčice s dodatkom CBD-a tretiran toplinskim tretmanom; ; HBSCBD – uzorak sosa rajčice s dodatkom CBD-a tretiran *hot break* tretmanom

#### 4.2.2. Rezultati mikrobiološke analize soka rajčice s dodatkom CBD-a

U Tablici 12 prikazani su rezultati mikrobiološke analize uzoraka tretiranih ultrazvukom visokog intenziteta, *hot break-om* te toplinskim tretmanom nultog i sedmog dana skladištenja.

**Tablica 12.** Rezultati mikrobiološke analize soka rajčice s dodatkom CBD-a nultog i sedmog dana skladištenja

Uzorak	<i>Escherichia coli</i> (CFU/g)		Aerobne mezofilne bakterije (CFU/g)		Plijesni (CFU/g)		<i>Bacillus coagulans</i> (CFU/g)	
	0. dan	7. dan	0. dan	7. dan	0. dan	7. dan	0. dan	7. dan
<b>CJ CBD</b>	<10	<10	6,0*10 <sup>2</sup>	1,0*10 <sup>4</sup>	1,0*10 <sup>2</sup>	1,0*10 <sup>2</sup>	<10	<10
<b>TJ CBD</b>	<10	<10	<10	1,0*10 <sup>4</sup>	<10	2,4*10 <sup>2</sup>	<10	<10
<b>HB CBD</b>	<10	<10	1,0*10 <sup>2</sup>	1,0*10 <sup>2</sup>	<10	20	<10	<10
<b>UJ1 CBD</b>	<10	<10	90	1,9 *10 <sup>2</sup>	<10	<10	<10	<10
<b>UJ2 CBD</b>	<10	<10	3,0*10 <sup>2</sup>	3,0*10 <sup>2</sup>	<10	<10	<10	<10

CBD – kanabidiol; CFU – broj formiranih kolonija (eng. *Colony Forming Unit*); CJ CBD - netretirani uzorak soka rajčice s dodatkom CBD-a; TJ CBD – uzorak soka rajčice s dodatkom CBD-a tretiran toplinskim tretmanom; HB CBD – uzorak soka rajčice s dodatkom CBD-a tretiran *hot break* tretmanom; UJ1 CBD – uzorak soka rajčice s dodatkom CBD-a tretiran ultrazvukom visokog intenziteta pri amplitudi od 75 %; UJ2 CBD – uzorak soka rajčice s dodatkom CBD-a tretiran ultrazvukom visokog intenziteta pri amplitudi od 100 %

Bakterije *Escherichia coli* i *Bacillus coagulans*. nisu zamijećene niti u jednom uzorku u broju većem od 10 CFU/g istog dana pripreme, kao ni nakon 7 dana skladištenja.

Aerobne mezofilne bakterije su ponovno prisutne u kontrolnom uzorku, no u većem broju u odnosu na sos rajčice. U odnosu na kontrolni uzorak, u svim tretiranim uzorcima dolazi do redukcije broja mikroorganizama. Ultrazvučnim tretmanom dolazi do redukcije broja bakterija, a vidljivo je kako je redukcija veća u slučaju niže amplitude. Kao što je već i spomenuto, tretman ultrazvukom uzrokuje pucanje staničnih membrana mikroorganizama, stvaranje slobodnih radikala te istjecanje staničnog materijala što dovodi do smrti mikroorganizama (Starek i sur, 2021).

Smanjenje broja mikroorganizama nakon tretmana *hot break-om* te toplinskim tretmanom pripisuje se visokoj temperaturi. Visoka temperatura utječe na permeabilnost membrane mikroorganizama te denaturira proteine i nukleinske kiseline čime dolazi do smrti mikroorganizma (Cebrián i sur., 2017).

Nakon 7 dana skladištenja dolazi do povećanja broja bakterija ili stagnacije u svim uzorcima. Stagnacija mikroorganizama može se povezati s dodatkom CBD-a. CBD smola je

lipofilna te sadržava vrlo mali udio vode te je kao takva nepogodna za rast i preživljavanje mikroorganizama. Dokazano je kako CBD ima negativan utjecaj na rast pojedinih bakterija te se promatraju njegova antimikrobna svojstva (Martinenghi i sur., 2020).

U Tablici 13 prikazani su rezultati redukcije broja mikroorganizama.

**Tablica 13.** Rezultati redukcije broja mikroorganizama soka rajčice s dodatkom CBD-a nultog dana skladištenja

Uzorak	Aerobne mezofilne bakterije (log CFU/g)
<b>UJ1CBD 0.dan</b>	0,8
<b>UJ2CBD 0.dan</b>	0,3
<b>HBJCBD 0.dan</b>	0,8
<b>TJ CBD 0. dan</b>	1,8

CBD – kanabidiol; CFU – broj formiranih kolonija (eng. *Colony Forming Unit*); UJ1CBD – uzorak soka rajčice s dodatkom CBD-a tretiran ultrazvukom visokog intenziteta pri amplitudi od 75 %; UJ2CBD – uzorak soka rajčice s dodatkom CBD-a tretiran ultrazvukom visokog intenziteta pri amplitudi od 100 %; HBJCBD – uzorak soka rajčice s dodatkom CBD-a tretiran *hot break* tretmanom; TJ CBD – uzorak soka rajčice s dodatkom CBD-a tretiran toplinskim tretmanom

Iz rezultata je vidljivo kako je najveća redukcija broja bakterija zabilježena u uzorku tretiranom toplinskim tretmanom, dok je najmanja ultrazvukom pri amplitudi od 100 %.

Na slici 6 prikazani su kontrolni uzorci te uzorci nakon tretmana ultrazvukom (UJ1CBD, UJ2CBD), *hot break-om* (HBJCBD) te toplinskim tretmanom (TJ CBD), sedmog dana skladištenja.



**Slika 6.** Kontrolni uzorak soka rajčice s dodatkom CBD-a te tretirani uzorci sedmog dana skladištenja (*vlastita fotografija*)

CBD – kanabidiol; CJCBD - netretirani uzorak soka rajčice s dodatkom CBD-a; UJ1CBD – uzorak soka rajčice s dodatkom CBD-a tretiran ultrazvukom visokog intenziteta pri amplitudi od 75 %; UJ2CBD – uzorak soka rajčice s dodatkom CBD-a tretiran ultrazvukom visokog intenziteta pri amplitudi od 100 %; TJCBD – uzorak soka rajčice s dodatkom CBD-a tretiran toplinskim tretmanom; HBJCBD – uzorak soka rajčice s dodatkom CBD-a tretiran *hot break* tretmanom

S obzirom na već spomenuti Pravilnik iz 2008. godine, vidljivo je kako su proizvodi zdravstveno ispravni s obzirom da su vrijednosti mikroorganizama navedenih u Pravilniku manji od graničnih vrijednosti.



## 5. ZAKLJUČCI

1. Dodatak CBD-a u sok i sos rajčice utjecao je na povećanje nutritivne vrijednosti, a dobiveni proizvodi se mogu svrstati u kategoriju funkcionalnih proizvoda.
2. Tretman ultrazvukom visokog intenziteta sosa rajčice s dodatkom CBD-a pokazuje najveće povećanje ukupnih polifenola (111,5 %), antioksidacijske aktivnosti (179 %) te koncentracije likopena (70 %). Tretman ultrazvukom visokog intenziteta soka rajčice s dodatkom CBD-a pokazuje najveće povećanje koncentracije svih biljnih pigmentata (likopen 233,8 %, klorofil a 83,1 %, klorofil b 96,5 %).
3. Ultrazvučna amplituda od 75 % prikladnija je za očuvanje polifenola te pigmentata, dok je amplituda od 100 % prikladnija za očuvanje antioksidacijske aktivnosti te redukciju mikroorganizama.
4. Tretman ultrazvukom visokog intenziteta ne utječe značajno na fizikalne parametre uzoraka u odnosu na ostale tretmane.
5. U funkcionalnim proizvodima na bazi rajčice s dodatkom kanabidiola, tretman ultrazvukom visokog intenziteta utječe na redukciju broja aerobnih mezofilnih bakterija.
6. Mikrobiološkom analizom svih uzoraka (sok i sos), utvrđena je prisutnost patogenih bakterija *Escherichia coli* i *Bacillus coagulans* u koncentracijama nižim od graničnih vrijednosti te su u tom pogledu svi uzorci zdravstveno ispravni.

## 6. LITERATURA

Alcántara C, Žugčić T, Abdelkebir R, García-Pérez JV, Jambrak AR, Lorenzo JM i sur. (2020) Effects of Ultrasound-Assisted Extraction and Solvent on the Phenolic Profile, Bacterial Growth, and Anti-Inflammatory Antioxidant Activities of Mediterranean Olive and Fig Leaves Extracts. *Molecules* **25**, 1718. <https://doi.org/10.3390/molecules25071718>

Ali MY, Sina AAI, Khandker SS, Neesa L, Tanvir EM, Kabir A i sur. (2021) Nutritional Composition and Bioactive Compounds in Tomatoes and Their Impact on Human Health and Disease: A Review. *Foods* **10**, 45. <https://dx.doi.org/10.3390/foods10010045>

Anarjan N (2020) Evaluation the Effects of Ultrasonic Parameters on Simultaneously Extraction and Size Reduction of Lycopene from Tomato Processing Waste. *Waste Biomass Valori* **11**, 1929-1940. <https://doi.org/10.1007/s12649-018-0528-y>

Anese M, Falcone P, Fogliano V, Nicoli MC, Massini R (2002) Effect of Equivalent Thermal Treatments on the Color and the Antioxidant Activity of Tomato Puree. *J Food Sci* **67**, 3442-3446. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2002.tb09603.x>

Atalay S, Jarocka-Karpowicz I, Skrzydlewska E (2020) Antioxidative and Anti-Inflammatory Properties of Cannabidiol. *Antioxidants* **9**, 21. <https://doi.org/10.3390/antiox9010021>

Aykas DP, Rodrigues Borba K, Rodriguez-Saona LE (2020) Non-Destructive Quality Assessment of Tomato Paste by Using Portable Mid-Infrared Spectroscopy and Multivariate Analysis. *Foods* **9**, 1300. <https://doi.org/10.3390/foods9091300>

Baltacıoğlu H (2022) Thermosonication of Peach Juice: Investigation of PPO and POD Activities, Physicochemical and Bioactive Compounds Changes, and Development of FT-IR Based Chemometric Models for The Evaluation of Quality. *Int J Food Sci Tech* **57**, 1688-1697. <https://doi.org/10.1111/ijfs.15536>

Bartkiene E, Vidmantienė D, Juodeikiene G, Viskelis P, Urbonaviciene D (2013) Lactic Acid Fermentation of Tomato: Effects on *cis/trans* Lycopene Isomer Ratio,  $\beta$ -Carotene Mass Fraction and Formation of L(+)- and D(-)-Lactic Acid. *Food Technol Biotechnol*, **51**, 471–478.

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.

Bujas T (2020) Konoplja i proizvodi od konoplje (završni rad), Kemijsko – tehnološki fakultet, Sveučilište u Splitu, Split.

Borycka B (2017) Tomato Fibre as Potential Functional Food Ingredients. *Pol J Natur Sc*, **32**, 121-130.

Bursać Kovačević D, Bilobrk J, Buntić B, Bosiljkov T, Karlović S, Rocchetti G i sur. (2019) High-power ultrasound altered the polyphenolic content and antioxidant capacity in cloudy apple juice during storage. *J Food Process Preserv*, e14023. <https://doi.org/10.1111/jfpp.14023>

Butorac J (2009) Predivo bilje, KUGLER d.o.o., Zagreb.

Cebrián G, Condón S, Mañas P (2017) Physiology of the Inactivation of Vegetative Bacteria by Thermal Treatments: Mode of Action, Influence of Environmental Factors and Inactivation Kinetics. *Foods* **6**, 107. <https://doi.org/10.3390/foods6120107>

Chaudhary P, Sharma A, Singh B, Nagpal 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. <https://doi.org/10.3136/fstr.20.1033>

Deng M, Deng Y, Dong L, Ma Y, Liu L, Huang F i sur. (2018) Effect of Storage Conditions on Phenolic Profiles and Antioxidant Activity of Litchi Pericarp. *Molecules* **23**, 2276.

<https://doi.org/10.3390/molecules23092276>

Dhansu P, Ram B, Singh AK, Tomar SK, Karuppaiyan R, Kumar R, i sur. (2023) Different Treatments for Sugarcane Juice Preservation. *Foods* **12**, 311.

<https://doi.org/10.3390/foods12020311>

Dudek G, Strzelewicz A, Krasowska M, Rybak A, Turczyn R (2014) A spectrophotometric method for plant pigments determination and herbs classification. *Chem Pap* **68**, 579–583.

<https://doi.org/10.2478/s11696-013-0502-x>

Dumay E, Chevalier-Lucia D, Picart-Palmade L, Benzaria A, Gràcia-Julià A, Blayo C (2013) Technological aspects and potential applications of (ultra) high-pressure homogenisation. *Trends Food Sci Tech* **31**, 13-26.

<https://doi.org/10.1016/j.tifs.2012.03.005>

Fairbairn JW, Liebmann JA, Rowan MG (1976) The stability of cannabis and its preparations on storage. *J Pharm Pharmacol* **28**, 1-7. <https://doi.org/10.1111/j.2042-7158.1976.tb04014.x>

Ferro Y, Mazza E, Angotti E, Pujia R, Mirarchi A, Salvati MA i sur. (2021) Effect of a novel functional tomato sauce (OsteoCol) from vine-ripened tomatoes on serum lipids in individuals with common hypercholesterolemia: tomato sauce and hypercholesterolemia. *J Transl Med* **19**,

19 <https://doi.org/10.1186/s12967-020-02676-3>

Foram VT, Rukhsar AM (2022) Study on the Microbial Spoilage of Tomato (*Lycopersicon esculentum*): A review. *J Creat Res Thoughts* **10**, 734 – 740.

Gallo M, Ferrara L, Naviglio D (2018) Application of Ultrasound in Food Science and Technology: A Perspective. *Foods* **7**, 164. <https://doi.org/10.3390/foods7100164>

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

Ghafoor K, Ahmed IAM, Doğu S, Uslu N, Fadimu GJ, Al Juhaimi F i sur. (2019) The Effect

of Heating Temperature on Total Phenolic Content, Antioxidant Activity, and Phenolic Compounds of Plum and Mahaleb Fruits. *Int J Food Eng* **15**, 11-12.

Ghinea C, Prisacaru AE, Leahu A (2022) Physico – chemical and sensory quality of pasteurized apple juices extracted by blender and cold pressing juicer, *Ovidius Univ Ann Chem* **33**, 84-93. <https://doi.org/10.2478/auoc-2022-0012>

Golmohamadi A, Möller 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 (2002) Flavor, Viscosity, and Color Analyses of Hot and Cold Break Tomato Juices. *J Food Sci* **67**, 404-408.

Górecka D, Wawrzyniak A, Jędrusek-Golińska A, Dziedzic K, Hamułka J, Kowalczewski PL i sur. (2020) Lycopene in tomatoes and tomato products. *Open Chem* **18**, 752-756. <https://doi.org/10.1515/chem-2020-0050>

Grinspoon P (2021, 24. rujna) Cannabidiol (CBD): What we know and what we don't. HHP – Harvard Health Publishing. <https://www.health.harvard.edu/blog/cannabidiol-cbd-what-we-know-and-what-we-dont-2018082414476> Pristupljeno 3. kolovoza 2023.

Gupta R, Balasubramaniam VM, Schwartz SJ, Francis DM (2010) Storage stability of lycopene in tomato juice subjected to combined pressure-heat treatments. *J Agric Food Chem* **58**, 8305-8313. <https://doi.org/10.1021/jf101180c>

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>

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>

Jakubek A (2020) Uzgoj industrijske konoplje na OPG-u „Antun Ciprijanović“ tijekom 2019.godine (završni rad), Fakultet agrobiotehničkih znanosti, Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Osijek.

Jeong SM, Kim SY, Kim DR, Jo SC, Nam KC, Ahn DU i sur. (2004) Effect of Heat Treatment on the Antioxidant Activity of Extracts from Citrus Peels. *J Agr Food Chem* **52**, 3389-3393. <https://doi.org/10.1021/jf049899k>

Jha SN, Rai DR, Shrama R (2012) Physico-chemical quality parameters and overall quality index of apple during storage. *J Food Sci Technol* **49**, 594-600. <https://doi.org/10.1007/s13197-011-0415-z>

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

Kakabouki I, Folina A, Efthimidaou A, Karydogianni S, Zisi C, Kouneli V i sur. (2021) Evaluation of Processing Tomato Pomace after Composting on Soil Properties, Yield, and Quality of Processing Tomato in Greece. *Agronomy* **11**, 88.

Kedare SB, Singh RP (2011) Genesis and development of DPPH method of antioxidant assay. *J Food Sci Technol* **48**, 412-422. <https://doi.org/10.1007/s13197-011-0251-1>

Kidoń M, Narasimhan G (2022) Effect of Ultrasound and Enzymatic Mash Treatment on Bioactive Compounds and Antioxidant Capacity of Black, Red and White Currant Juices. *Molecules* **27**, 318. <https://doi.org/10.3390/molecules27010318>

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>

Kubo MTK, Augusto PED, Cristianini M (2013) Effect of high pressure homogenization (HPH) on the physical stability of tomato juice. *Food Res Int* **51**, 170-179.

<https://doi.org/10.1016/j.foodres.2012.12.004>

Kumcuoglu S, Yilmaz T, Tavman S (2014) Ultrasound assisted extraction of lycopene from tomato processing wastes. *J Food Sci Technol* **51**, 4102-4107. <https://doi.org/10.1007/s13197-013-0926-x>

Lafarga T, Rodríguez-Roque MJ, Bobo G, Villaró S, Aguiló-Aguayo I (2019) Effect of ultrasound processing on the bioaccessibility of phenolic compounds and antioxidant capacity of selected vegetables. *Food Sci Biotechnol* **28**, 1713-1721. <https://doi.org/10.1007/s10068-019-00618-4>

Lagundžija D (2021) Prikladnost udomaćenih sorti rajčice za hidroponski uzgoj (diplomski rad), Agronomski fakultet, Sveučilište u Zagrebu, Zagreb.

Lamuela-Raventós RM (2018) Folin-Ciocalteu method for the measurement of total phenolic content and antioxidant capacity. U: Apak R, Capanoglu E, Shahidi F (ured.) Measurement of Antioxidant Activity & Capacity [online], John Wiley & Sons Ltd, str. 107–114. <https://doi.org/10.1002/9781119135388.ch6>

Larrosa M, Llorach R, Espiñ JC, Toma's-Barberá FA (2002) Increase of Antioxidant Activity of Tomato Juice Upon Functionalisation with Vegetable Byproduct Extracts. *Lebensm Wiss Technol* **35**, 532–542.

Li H, Zhang J, Wang Y, Li J, Yang Y, Liu X (2018) The Effects of Storage Conditions on Lycopene Content and Color of Tomato Hot Pot Sauce. *Int J Anal Chem* **2018**, 1–8.

Li R, Wang C, Zhou G, Li C, Ye K (2021b) The effects of thermal treatment on the bacterial community and quality characteristics of meatballs during storage. *Food Sci Nutr* **9**, 564-573. <https://doi.org/10.1002/fsn3.2026>

Li W, Ma H, He R, Ren X, Zhou C (2021a) Prospects and application of ultrasound and magnetic fields in the fermentation of rare edible fungi. *Ultrason Sonochem* **76**, 105613.

Lin YS, Huang WY, Ho PY, Hu SY, Lin YY, Chen CY i sur. (2020) Effects of Storage Time and Temperature on Antioxidants in Juice from *Momordica charantia* L. and *Momordica charantia* L. var. *abbreviata* Ser. *Molecules* **25**, 3614. <https://doi.org/10.3390/molecules25163614>

Ma YQ, Chen JC, Liu DH, Ye XQ (2008) Effect of Ultrasonic Treatment on the Total Phenolic and Antioxidant Activity of Extracts from Citrus Peel. *J Food Sci* **73**, 115–120. <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2008.00908.x>

Mantovani C, Clemente E (2010) Peroxidase and polyphenoloxidase activity in tomato in natura and tomato purée. *Acta Sci Technol* **32**, 91-97.

Martinenghi LD, Jønsson R, Lund T, Jenssen H (2020) Isolation, Purification, and Antimicrobial Characterization of Cannabidiolic Acid and Cannabidiol from *Cannabis sativa* L. *Biomolecules* **10**, 900. <https://doi.org/10.3390/biom10060900>

Maskat MY, Tan SM (2011) Effect of heat treatment on the physico-chemical properties of Mengkudu (*Morinda citrifolia*) extract. *Int Food Res J* **18**, 1007-1011.

Mechoulam R, Peters M, Murillo – Rodriguez E, Hanus LO (2007) Cannabidiol – Recent Advances. *Chem Biodivers* **4**, 1678-1692.

Montanari A, Barone C, Barone M, Santangelo A (2018) Canned Tomato Sauces and Beans: Industrial Processes. U: Montanari A, Barone C, Barone M, Santangelo A (ured.) *Thermal Treatments of Canned Foods* [online] , Springer, Cham, str. 43–53. <https://doi.org/10.1007/978-3-319-74132-1>

Mukhtar K, Ghulam Nabi B, Arshad RN, Roobab U, Yaseen B, Ali MM i sur. (2022) Potential impact of ultrasound, pulsed electric field, high-pressure processing and microfluidization against thermal treatments preservation regarding sugarcane juice (*Saccharum officinarum*). *Ultrason Sonochem* **90**, 106194. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2022.106194>

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.

NIH (2019) Cannabis (Marijuana) and Cannabinoids: What You Need to Know. NIH – National Center for Complementary and Integrative Health, <https://www.nccih.nih.gov/health/cannabis-marijuana-and-cannabinoids-what-you-need-to-know> Pristupljeno 3. kolovoza 2023.

Nowak KW, Mielnik P, Sięda M, Staniszevska I, Bieniek A (2021) The effect of ultrasound treatment on the extraction of lycopene and  $\beta$ -carotene from cherry silverberry fruits. *AIMS Agric Food* **6**, 247-254.

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>

Oliveira VS, Rodrigues S, Fernandes FAN (2015) Effect of high power low frequency ultrasound processing on the stability of lycopene. *Ultras Sonochem* **27**, 586-591. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ultsonch.2015.04.016>

Oroian M, Ursachi F, Dranca F (2020) Influence of ultrasonic amplitude, temperature, time and solvent concentration on bioactive compounds extraction from propolis. *Ultrason Sonochem* **64**, 105021. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2020.105021>

Parađiković N (2002) Osnove proizvodnje povrća, Katava, Osijek.

Pérez-Marín J, Issa-Issa H, Clemente-Villalba J, García-Garví JM, Hernández F, Carbonell-Barrachina ÁA i sur. (2021) Physicochemical, Volatile, and Sensory Characterization of Promising Cherry Tomato (*Solanum lycopersicum* L.) Cultivars: Fresh Market Aptitudes of Pear and Round Fruits. *Agronomy* **11**, 618.

Pisoschi, AM, Negulescu GP (2011) Methods for total antioxidant activity determination: a review. *Biochem Anal Biochem* **1**, 106.

Pollio A (2016) The Name of *Cannabis*: A Short Guide for Nonbotanists. *Cannabis*

*Cannabinoid Res* **1**, 234-238. <https://doi.org/10.1089/can.2016.0027>

Pravilnik (2008) Pravilnik o mikrobiološkim kriterijima za hranu. Narodne novine 74, Zagreb. [https://narodne-novine.nn.hr/clanci/sluzbeni/2008\\_06\\_74\\_2454.html](https://narodne-novine.nn.hr/clanci/sluzbeni/2008_06_74_2454.html) Pristupljeno 20. kolovoza 2023.

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 15. srpnja 2023.

Rao AV, Ray MR, Rao LG (2006) Lycopene. *Adv Food Nutr* **51**, 99–164. [https://doi.org/10.1016/s1043-4526\(06\)51002-2](https://doi.org/10.1016/s1043-4526(06)51002-2)

Rehman MA, Khan MR, Sharif MK, Shabbir A, Faiz ul Hassan S (2014) Study on the storage stability of fruit juice concentrates. *Pak J Food Sci* **24**, 101-107.

Russell AD (2003) Lethal effects of heat on bacterial physiology and structure. *Sci Prog* **86**, 115–137.

Saha D, Bhattacharya S (2010) Hydrocolloids as thickening and gelling agents in food: a critical review. *J Food Sci Technol* **47**, 587-597. <https://doi.org/10.1007/s13197-010-0162-6>

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

Schreiber BA (2023, 28. srpnja) Cannabis – Definition, Species & Marijuana. Encyclopedia Britannica. <https://www.britannica.com/plant/cannabis-plant> Pristupljeno 3. kolovoza 2023.

Seong E, Heo H, Jeong HS, Lee H, Lee J (2023) Enhancement of bioactive compounds and biological activities of *Centella asiatica* through ultrasound treatment. *Ultrason Sonochem* **94**, 106353. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2023.106353>

Shi J, Dai Y, Kakuda Y, Mittal G, Xue SJ (2008) Effect of heating and exposure to light on the

stability of lycopene in tomato purée. *Food Control* **19**, 514–520. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2007.06.002>

Sibomana Imani C, Sado Kamdem SL, Mushagalusa Nachigera G, Essia Ngang JJ (2020) Nutritional Quality and Shelf Life of Processed Tomato Juice and Paste Using *Rosmarinus officinalis* Essential Oil Combined with Low Heat Treatment in Challenged Conditions with *Bacillus cereus* Spores. *J Adv Microbiol* **19**, 1-13.

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

Singh H, Kumar P, Chaudhari S, Edelstein M (2017) Tomato Grafting: A Global Perspective. *Hortic Sci* **52**, 1328 – 1336.

Singh SK, Sharma M (2017) Review on Biochemical Changes Associated with Storage of Fruit Juice. *Int J Curr Microbiol App Sci* **6**, 236-245.

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

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>

Strouse TB (2016) Cannabinoids in Medical Practice. *Cannabis Cannabinoid Res* **1**, 38-43. <https://doi.org/10.1089/can.2015.0010>

Škof M (2020) Hidrodinamički kavitacijski reaktori – koncept, analiza hidrodinamičkih uvjeta i primjena (diplomski rad), Prehrambeno – biotehnološki fakultet, Sveučilište u Zagrebu, Zagreb.

Tarko T, Tuszyński T (2007) Influence of selected additives on colloid stability of alcoholic emulsion creams. *Pol J Food Nutr Sci* **57**, 17-24.

Tomašić Paić A (2012) Svojstva kanabinoidnih receptora ljekovite biljke *Cannabis sativa*. *Med Vjesn* **44**, 147-162.

Vallverdú-Queralt A, Medina-Remón A, Casals-Ribes I, Andres-Lacueva C, Waterhouse AL, Lamuela-Raventos RM (2012) Effect of tomato industrial processing on phenolic profile and hydrophilic antioxidant capacity. *LWT - Food Sci Technol* **47**, 154-160.

Wu J, Gamage TV, Vilku KS, Simons LK, Mawson R (2008) Effect of thermosonication on quality improvement of tomato juice. *Innov Food Sci Emerg* **9**, 186-195.

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>

Xu G, Ye X, Chen J, Liu D (2007) Effect of Heat Treatment on the Phenolic Compounds and Antioxidant Capacity of Citrus Peel Extract. *J Agr Food Chem* **55**, 330–335. <https://doi.org/10.1021/jf062517l>

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>

## IZJAVA O IZVORNOSTI

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

*Silvija Lea Švaljek*

Vlastoručni potpis