

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU  
PREHRAMBENO-BIOTEHNOLOŠKI FAKULTET

Lucija Marković

**Utjecaj hladne plazme na senzorska i fizikalno-kemijska  
svojstva soka od jabuke**

Zagreb, 2016

Ovaj rad izrađen je u Laboratoriju za procesno-prehrambeno inženjerstvo na Zavodu za prehrambeno-tehnološko inženjerstvo Prehrambeno-biotehnološkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu pod mentorstvom prof. dr. sc. Zorana Hercega te uz pomoć asistentice Tomislave Vukušić, mag. ing.. Dio istraživanja proveden je u Laboratoriju za tehnološke operacije na Zavodu za procesno inženjerstvo Prehrambeno-biotehnološkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu i na Nastavnom Zavodu za javno zdravstvo Primorsko-goranske županije. Rad je predan na natječaj za dodjelu Rektorove nagrade u akademskoj godini 2015./2016.

# SADRŽAJ

<b>1. UVOD .....</b>	<b>1</b>
<b>2. TEORIJSKI DIO .....</b>	<b>2</b>
2.1. Plazma .....	2
2.1.1. Definicija plazme.....	2
2.1.2. Vrste i podjela plazmi.....	3
2.1.3. Nastajanje plazme.....	4
2.2. Jabuka.....	6
2.2.1. Osnovna svojstva.....	6
2.2.2. Voćni sok od koncentriranog voćnog soka od jabuke.....	7
2.2.3. Kemijski sastav jabuke i soka od jabuke .....	7
2.2.4. Antioksidacijska svojstva soka od jabuke .....	9
2.2.5. Aromatski profil soka od jabuke .....	10
2.3. Primjena tretmana hladnom plazmom na sok od jabuke .....	12
2.4. Opći i specifični ciljevi rada.....	15
<b>3. MATERIJALI I METODE.....</b>	<b>16</b>
3.1. Materijali .....	16
3.1.1. Sirovine za pripremu soka od koncentriranog soka od jabuke .....	16
3.1.2. Označavanje uzoraka.....	16
3.2. Metode rada .....	17
3.2.1. Provedba eksperimenta.....	17
3.2.2. Određivanje pH-vrijednosti .....	19
3.2.3. Određivanje konduktivnosti .....	19
3.2.4. Određivanje temperature .....	19
3.2.5. Određivanje parametara boje po CIELAB sustavu .....	20
3.2.6. Ekstrakcija fenolnih spojeva.....	20
3.2.7. Određivanje antioksidacijskog kapaciteta DPPH metodom .....	21
3.2.8. Određivanje antioksidacijskog kapaciteta ABTS metodom .....	22
3.2.9. Određivanje aromatičnih spojeva primjenom plinske kromatografije s masenom spektrometrijom (GC-MS) .....	23
3.2.9.1. Priprema uzorka.....	23
3.2.9.2. HS-SPME ekstrakcija.....	23
3.2.9.3. Plinska kromatografija s masenom spektrometrijom (GC-MS) .....	24
3.2.9.4. Identifikacija i kvantifikacija aromatičnih spojeva.....	25
3.2.10. Određivanje prisutnosti metala.....	25
3.2.11. Senzorsko ocjenjivanje kvantitativnom deskriptivnom analizom (QDA).....	25
<b>4. REZULTATI .....</b>	<b>27</b>
4.1. Izmjerene vrijednosti pH, konduktivnosti i temperature prije i poslije tretmana .....	27
4.2. Boja .....	27
4.3. Antioksidacijski kapacitet .....	30
4.3.1. Antioksidacijski kapacitet određen DPPH metodom .....	30
4.3.2. Antioksidacijski kapacitet određen ABTS metodom .....	31
4.4. Arome .....	32

4.5.	Metali.....	34
4.6.	Senzorska analiza .....	34
<b>5.</b>	<b>RASPRAVA .....</b>	<b>36</b>
5.1.	Utjecaj hladne plazme na pH, konduktivnost i temperaturu soka od koncentriranog soka od jabuke .....	36
5.2.	Utjecaj hladne plazme na boju soka od koncentriranog soka od jabuke .....	36
5.3.	Utjecaj hladne plazme na antioksidacijski kapacitet soka od koncentriranog soka od jabuke.....	37
5.4.	Utjecaj hladne plazme na aromatski profil soka od koncentriranog soka od jabuke.....	38
5.5.	Utjecaj hladne plazme na prisutnost metala u uzorcima soka od koncentriranog soka od jabuke.....	39
5.6.	Utjecaj hladne plazme na senzorska svojstva soka od koncentriranog soka od jabuke ....	40
<b>6.</b>	<b>ZAKLJUČAK.....</b>	<b>41</b>
<b>7.</b>	<b>LITERATURA .....</b>	<b>42</b>
<b>8.</b>	<b>SAŽETAK.....</b>	<b>47</b>
<b>9.</b>	<b>SUMMARY.....</b>	<b>48</b>
<b>10.</b>	<b>ŽIVOTOPIS.....</b>	<b>49</b>

## **1. UVOD**

Konzerviranje namirnica zajednički je naziv za različite procese kojima je svrha da se u što većoj mjeri i tijekom što duljeg vremenskog razdoblja očuva izvorna kvaliteta neke namirnice, odnosno da se spriječi njezino kvarenje i degradacija. Današnji potrošači od prehrambene industrije zahtjevaju zdravstveno ispravnu, nutritivno vrijednu, te minimalno procesiranu hranu. Minimalno procesirana hrana je ona u kojoj su u najvećoj mogućoj mjeri sačuvane izvorne organoleptičke i nutritivne značajke sirovine. Prehrambena industrija danas pokazuje veliki interes za razvoj postupaka koji omogućuju minimalno procesiranje hrane, a mogli bi zamijeniti standardne metode konzerviranja poput pasterizacije, sterilizacije, zamrzavanja, sušenja, fermentacije i dr. Novi postupci procesiranja hrane mogu u potpunosti zamijeniti pojedine standardne operacije, a pri tome se dobivaju proizvodi bolje kakvoće, postiže se ušteda energije, te skraćuje trajanje tehnološkog procesa (Herceg, 2009). U alternativne postupke konzerviranja spadaju: procesiranje hrane ultrazvukom, pulsirajućim električnim poljem, ohmskim zagrijavanjem, svjetлом jakog intenziteta, visokim tlakom, magnetskim poljem, visokonaponskim električnim pražnjenjem i drugi postupci.

Plazma je tvz. četvrto stanje materije koje nastaje ionizacijom plina i sastoji se od nabijenih čestica (elektrona, iona), radikala, fotona i neutralnih čestica (atoma, molekula). Visokonaponsko električno pražnjenje („hladna plazma“) kao novi postupak procesiranja hrane ima brojne pogodnosti, lako se prilagođava i primjenjuje u pogonima za proizvodnju hrane, zahtjeva malo energije, te kratko vrijeme tretiranja. Provedena su brojna istraživanja kojim se potvrdilo da ima veliki potencijal za konzerviranje prehrambenih proizvoda.

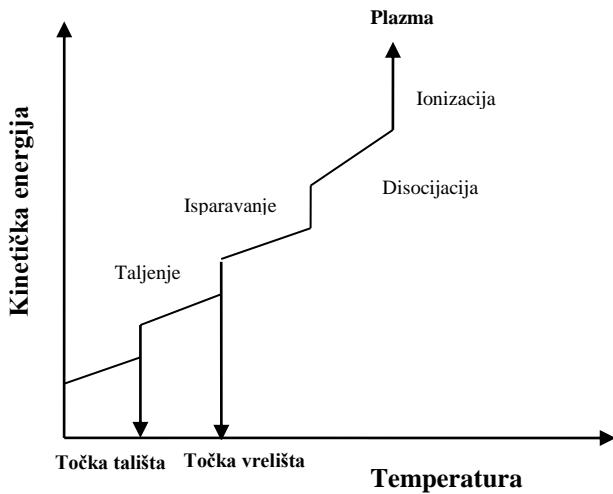
Antimikrobno djelovanje visokonapinskog električnog pražnjenja na sok od jabuke je znanstveno dokazano, a cilj ovog rada je utvrditi utječe li na senzorska i fizikalno-kemijska svojstva soka od jabuke. Nastojati će se utvrditi utjecaj visokonapinskog električnog pražnjenja na pH, konduktivnost i boju soka jabuke kao i na antioksidacijski kapacitet, aromatski profil te senzorska svojstva istog.

## 2. TEORIJSKI DIO

### 2.1. Plazma

#### 2.1.1. Definicija plazme

Riječ plazma dolazi od grčke riječi *plásma*, što u slobodnom prijevodu znači *samooblikovanje materijala*. Prvi je na znanstveni način plazmu opisao sir William Crookes 1879. godine, nazvavši je "materijom koja zrači", dok je izraz plazma prvi upotrijebio Irving Langmuir 1926. godine kako bi opisao pojavu električnog pražnjenja. Kasnije, definicija se širi i opisuje četvrto agregatno stanje materije. Plazma je ionizirani ili djelomično ionizirani plin koji se sastoji od nabijenih čestica (elektrona, iona), radikala, fotona i neutralnih čestica (atoma, molekula) (Hamerli, 2004; Ercegović Ražić i Čunko, 2009; Kutlu i Cireli, 2016). Koncentracija pozitivno nabijenih iona i negativno nabijenih čestica u plazmi je jednaka, što opisuju njenu kvazineutralnost (Fridman, 2008). Materijali se sastoje od atoma i molekula te s povećanjem temperature prelaze iz krutog u tekuće i potom u plinovito stanje (slika 1). S povećanjem temperature krutih materijala, dolazi do sve intenzivnijeg gibanja atoma tako da u jednom trenutku počinju napuštati svoje mjesto određeno potencijalnom energijom i dolazi do prijelaza u tekuće stanje. Dalnjim zagrijavanjem tekućine, kinetička energija molekula postaje veća od njihove potencijalne energije što uzrokuje ubrzano gibanje, međusobno sudaranje i prijelaz u plinovito stanje. S povećanjem temperature na više od nekoliko tisuća stupnjeva dolazi do ionizacije. Sudari atoma postaju toliko intenzivni da dolazi do oslobađanja elektrona pri čemu nastaju negativno nabijeni elektroni i pozitivno nabijeni ioni. Električki nabijene čestice u gibanju stvaraju električna i magnetska polja čime se dobiva energija potrebna za daljnju ionizaciju, odnosno nastajanje gotovo potpuno ionizirane tvari – plazme (Hamerli, 2004; Ercegović Ražić i Čunko, 2009).



**Slika 1.** Shematski prikaz prijelaza stanja materije (vlastita shema)

Za znanstvene, kao i praktične primjene plazma je vrlo interesantna zbog dvaju važnih karakteristika. Prvo, postižu se velike temperature i energije što je izvanredno zanimljivo i za znanost i za primjenu. Kao drugo, upravo zbog stvaranja visoko energetskih pobuđenih atoma u plazmi dolazi do kemijskih reakcija koje nisu moguće u normalnim uvjetima, tako da u plazmama nastaju egzotične molekule koje ne mogu nastati u normalnim uvjetima (aluminijev hidrid, mangan monohidrat (Labazan i sur., 2006), titan monohidrat, cink monohidrat ili magnezij monohidrat (Krstulović i sur., 2006).

### 2.1.2. Vrste i podjela plazmi

Oblici i vrste plazmi su brojni zbog čega se plazme mogu klasificirati prema više kriterija:

- energiji i gustoći nabijenih čestica
- temperaturi
- tlaku plina pri kojem nastaje plazma
- obliku supstrata

Međutim, osnova klasifikacija plazmi je prema temperaturi pri kojoj se provode obrade te se prema tom kriteriju plazme svrstavaju u termalne ili vruće (engl. *hot plasma, thermal plasma*) i hladne (engl. *cold plasma, non-thermal plasma*). Termalna plazma je primjer ravnotežne plazme (engl. *equilibrium plasma*) u kojoj je temperatura elektrona i

težinskih ionskih čestica jednaka i u pravilu visoka. Dakle, stupanj ionizacije je vrlo visok i razvija se visoka temperatura. Najčešća primjena termalne plazme je u postupcima zavarivanja, toplinskog raspršivanja te kao metoda za utvrđivanje metala pri analizi vode itd. (Bogaerts i sur., 2006).

S druge strane, elektroni u hladnoj plazmi imaju višu temperaturu od težinskih ionskih čestica u plazmi zbog čega se ova plazma još naziva i neravnotežna plazma (engl. *non-equilibrium plasma*). Moguće je ostvariti uvjete u kojima je temperatura plazme jednaka sobnoj temperaturi, dok je temperatura elektrona znatno viša zbog čega je ovaj tip plazme prikladan za obradu termički osjetljivih materijala (Ercegović Ražić i Čunko, 2009; Kutlu i Cireli, 2016). S obzirom na tlak neutralnog plina u kojem se kreću ionizirane čestice u odnosu na atmosferski tlak plazme se dijele na niskotlačne, atmosferske, subatmosferske i visokotlačne plazme (Boulos i sur., 1994).

### **2.1.3. Nastajanje plazme**

Za nastanak plazme potrebna je ionizacija. Općenito, kako bi došlo do stvaranja plazme, potrebno je atomima i molekulama u plinu osigurati dovod energije iz vanjskog izvora. Termalne plazme dobivaju se primjenom visoke temperature, a hladne plazme električnim pražnjenjem koje nastaje između dviju elektrodi priključenih na vanjski izvor energije. Električni potencijal i odgovarajuće električno polje uzrokuju privlačenje elektrona prema anodi, dok jezgru atoma privlači katoda. Kako napon raste povećava se naprezanje u atomima, sve do dielektrične granice, kada se pojavljuje iskra i plin postaje ioniziran. Tada dolazi do lavine ionizacije, sudsar elektrona i neutralnog atoma stvara nove elektrone i pozitivno nabijene ione (Fridman, 2008). Uz ionizaciju, dolazi i do reakcija disocijacije, ekscitacije, rekombinacije i dr. Neke od reakcija elektrona i iona u plazma fazi dvoatomnog plina (npr. O<sub>2</sub>) prikazane su u tablici 1 (Braithwaite, 2000). Nastanak plazme očituje se vidljivim sjajem, a boja plazme karakteristična je za primjenjeni plin (Hamerli, 2004). Naime, boja nastaje kao rezultat relaksacije elektrona koji prelaze iz pobuđenog u osnovno stanje, pri čemu emitiraju energiju u obliku vidljive svijetlosti (Čunko i Ercegović Ražić, 2010/2011).

**Tablica 1.** Primjeri mogućih reakcija u plazma fazi dvoatomnog plina (Braithwaite, 2000)

<b>Reakcije elektrona:</b>	
<b>Ionizacija:</b>	$e^- + X - X \rightarrow X - X^+ + 2e^-$
	$e^- + X \rightarrow X^+ + 2e^-$
<b>Disocijacija:</b>	$e^- + X - X \rightarrow 2X + e^-$
	$e^- + X^+ \rightarrow X$
<b>Rekombinacija:</b>	$e^- + X^+ \rightarrow X - X$
	$e^- + X - X \rightarrow X - X^-$
<b>Pridruživanje:</b>	$e^+ + X \rightarrow X^-$
	$e^- + X - X \rightarrow X - X^-$
<b>Reakcije iona:</b>	
<b>Prijenos naboja:</b>	$X^+ + X - X \rightarrow X - X^- + X$
	$X - X^+ + X \rightarrow X - X + X^+$
<b>Odcjepljenje:</b>	$X^- + X \rightarrow X - X + e^-$
	$X^- + X - X \rightarrow X + X - X + e^-$
<b>Ion-ion rekombinacija:</b>	$X^- + X^+ \rightarrow X - X$
	$X^- + X - X^+ \rightarrow X - X + X$

Atmosferska plazma se dobiva pri standardnom atmosferskom tlaku, a klasificira se prema načinu dobivanja, odnosno načinu induciranja ionizacije plinova. Razlikujemo pražnjenje koronom (engl. *corona*), dielektrično barijerno pražnjenje (engl. *dielectric barrier discharge, silent discharge*) i pražnjenje tinjanjem (engl. *glow discharge*).

Do pražnjenja koronom dolazi pri atmosferskom tlaku djelovanjem električnog polja niske frekvencije ili visokog impulsnog napona između para elektrodi. Uzorak je smješten između elektrodi, koje su najčešće različitog oblika, i izložen direktnom djelovanju plazme. Obrada koronom je jedna od najstarijih i najčešće primjenjivanih tehnika obrade plazmom uz okolni zrak kao radni plin.

Dielektrično barijerno pražnjenje formira se primjenom visokog impulsnog napona i izmjenične struje između para elektrodi od kojih je barem jedna prekrivena izolirajućim (dielektričnim) materijalom (Cui i Brown, 2002; Kogelschatz, 2003; Shishoo, 2007). I ovim postupkom nastaje nehomogena plazma koja može uzrokovati nejednoličnu obradu materijala.

Pražnjenje tinjanjem može se formirati pri niskom ili atmosferskom tlaku primjenom para ili serija elektroda. Rezultat je jednolična i stabilna plazma. Niskotlačni plazma sustav sastoji se od pet osnovnih elemenata: vakumske komore, pumpe, sustava za uvođenje plina, niskofrekventnog, visokofrekventnog ili mikrovalnog generatora i računalnog sustava. Pomoću vakumske pumpe postiže se niski tlak, a u trenutku postizanja željenog tlaka u sustav, između dviju (jedne) elektroda, uvodi se plin koji se pomoću generatora potrebne frekvencije pobuđuje i prevodi u stanje plazme.

U ovom radu plazma je dobivana dielektričnim barijernim pražnjenjem.

## 2.2. Jabuka

### 2.2.1. Osnovna svojstva

Jabuka je biljna vrsta roda *Malus* iz porodice ruža (*Rosaceae*) carstva *Plantae*. Jabuka kakva se danas uzgaja potječe iz Središnje Azije, točnije Kazahstana, odakle je preko Perzije prenesena u Europu. Jabuke imaju vjerski i mitološki značaj u brojnim kulturama, uključujući nordijske, grčke i europske kršćanske tradicije. Listopadno je drvo koje dostiže visinu od 1.8-4.6 m u uzgoju, a do 12 m u divljini. Ovalni tamnozeleni listovi s nazubljenim rubovima i dlakavom donjom površinom naizmjenično su raspoređeni po granama. Poznato je više od 7500 sorti jabuka (Mratić, 2013). Najraširenije i najkonzumiranije sorte u Hrvatskoj su Golden Delicious, Grenny Smith, Idared, Jona gold, Elstar, Gala, Ananas reneta, Baumanova reneta, Bjeličnik. Jabuke se konzumiraju u velikim količinama u cijelom svijetu zbog vrlo dobrih tehnoloških svojstava, ali upravo i zbog jedinstvenih senzorskih karakteristika. Različite sorte uzbajaju se zbog raznolikosti okusa i primjene, uključujući sorte za kuhanje, preradu, proizvodnju jabukovače i one koje se konzumiraju sirove. Sok od jabuke jedna je od najrasprostranjenijih prerađevina jabuka. Jabuke namijenjene preradi u sok najčešće se beru u rujnu i sredinom studenog na sjevernoj zemljinoj polutci te u veljači do sredine travnja na južnoj polutci. Često korištena sorta za proizvodnju soka od jabuke je McIntosh. Nakon što su ubrane, jabuke su oprane i transportirane na preradu. Poželjno je jabuke što prije preraditi u sok kako bi se izbjeglo kvarenje. Gnječenjem i cijedenjem iz jabuka se dobiva sok koji je zatim filtriran i najčešće konzerviran postupkom pasterizacije.

## **2.2.2. Voćni sok od koncentriranog voćnog soka od jabuke**

Voćni sokovi i njima srodni proizvodi jedna su od najznačajnijih skupina voćnih prerađevina s prehrambenoga i gospodarskoga gledišta. To su polidisperzni sustavi koji se međusobno razlikuju po veličini čestica voćnog tkiva i njihovojoj topljivosti u vodi. Prema Pravilniku o voćnim sokovima i njima sličnim proizvodima namijenjenim za konzumaciju (NN 48/2013) voćni sok od koncentriranog voćnog soka proizvodi se rekonstituiranjem koncentriranog voćnog soka s vodom za piće koja udovoljava kriterijima propisanim Pravilnikom o zdravstvenoj ispravnosti vode za piće (NN 47/2008.). Sadržaj topljive tvari finalnog proizvoda mora udovoljavati najmanjoj vrijednosti stupnjeva Brix-a za rekonstituirane sokove. Aroma, pulpa i čestice voćnog tkiva koji su dobiveni odgovarajućim fizikalnim postupcima iz iste vrste voća mogu biti vraćeni u voćni sok od koncentriranog voćnog soka. Voćni sok od koncentriranog voćnog soka proizvodi se primjenom odgovarajućih procesa kojima se zadržavaju esencijalne fizikalne, kemijske, senzorske i prehrambene karakteristike prosječne vrste soka od voća od kojega potječe. U proizvodnji voćnog soka od koncentriranog voćnog soka dopušteno je miješanje voćnog soka i/ili koncentriranog voćnog soka i voćne kaše i/ili koncentrirane voćne kaše. Koncentrirani voćni sok proizvodi se od voćnog soka jedne ili više vrsta voća fizikalnim uklanjanjem određene količine vode. Ako je proizvod namijenjen krajnjem potrošaču, količina uklonjene vode treba iznositi najmanje 50%. Najmanja vrijednost stupnjeva Brix-a za rekonstruirani voćni sok od koncentriranog voćnog soka od jabuke (*Malus domestica Borkh*) je 11,2.

## **2.2.3. Kemijski sastav jabuke i soka od jabuke**

Hranjiva vrijednost jabuke je poznata i ona predstavlja varijablu kemijskog sastava jabuke. Kemijski sastav jabuke varira ovisno o kultivaru, a čine ga šećeri, proteini, voda, vitamin C i mineralne tvari: N, P, K, Ca, Mg, Fe. Udio šećera u jabuci varira između 9.53 i 12.34 %, vitamin C varira između 25.75 i 77 mg/100 g svježe jabuke, a vrijednost ukupne kiselosti se kreće između 0.13 i 0.35 %. Udio ukupnog dušika se kreće između 0.67 i 0.11%, fosfora između 0.15 i 0.24 %, natrija između 0.40 i 0.75 %. Vrijednosti za Ca variraju između 2.5 i 7.8 mg/100g svježe jabuke, a vrijednosti za željezo variraju između 0.2 i 0.28 mg/100g svježe jabuke (Campeanu, 2009). Brojni faktori poput kultivara, regije uzgoja, klime, poljoprivredne prakse, berbe, uvjeta skladištenja i dr. utječu na kemijski sastav soka od

jabuke. U tablici 2 prikazan je kemijski sastav soka od jabuke pripremljenog od 174 varijeteta jabuke iz 12 različitih zemalja.

**Tablica 2.** Kemijski sastav soka od jabuka (Eisele i Drake, 2005)

Brix °	11.36
pH	3.71
Ukupna kiselost (% od jabučne kiseline)	0.87
Pepeo (% w/w)	0.25
Saharoza	2.16 g/100mL
Glukoza	2.01 g/100mL
Fruktoza	5.69 g/100mL
Sorbitol	0.45 g/100mL
Omjer Glu/Fru	3.05 g/100mL
Kininska kiselina	41.80 mg/100mL
Jabučna kiselina	847.70 mg/100mL
Izolimunska kiselina	3.80 mg/100mL
Limunska kiselina	11.90 mg/100mL
Fumarna kiselina	0.14 mg/100mL
Natrij	11.80 ppm
Kalij	1511.00 ppm
Magnezij	64.90 ppm
Kalcij	41.90 ppm
Željezo	0.10 ppm
Kloridi	1.40 ppm
Fosfati	252.10 ppm

#### **2.2.4. Antioksidacijska svojstva soka od jabuke**

Glavna karakteristika antioksidanta je njihova mogućnost hvatanja slobodnih radikala koji mogu uzrokovati oksidaciju nukleinskih kiselina, proteina, lipida ili DNA molekula (Kaur i Kapoor, 2001). Antioksidanti neutraliziraju slobodne radikale donirajući im svoj elektron i na taj način prekidaju lančane reakcije s drugim molekulama, a doniranjem elektrona ne postaju nestabilni. U biljnom i životinjskom svijetu nalazimo čitav niz različitih vrsta antioksidanata. Najznačajniji antioksidanti su vitamin C, vitamin E i fenolni spojevi.

Fenolni spojevi su sekundarni metaboliti, prisutni u povrću, voću i žitaricama, koji imaju veliku antioksidacijsku aktivnost. Do danas je poznato više od 8000 različitih struktura fenolnih spojeva (Harborne i Baxter, 1999). Osnovnu strukturu fenolnih spojeva čini aromatski prsten na koji može biti vezana jedna ili više hidroksilnih skupina, a zbog svoje kompleksne kemijske građe dijele se na skupine flavonoida (flavoni, izoflavoni i antocijanidini) i fenolnih kiselina (hidroksicimetne kiseline, hidroksibenzojeve kiseline) (Kyselova, 2011). Fenolni spojevi štite biljku od UV zračenja i štetočina, vizualno (bojom) privlače insekte radi opršivanja te djeluju antioksidativno, antimikrobnog i kao fotoreceptori (Pietta, 2000). Za zaštitnu ulogu flavonoida odgovorna je njihova sposobnost sparivanja elektrona slobodnih radikala, kelatnog vezanja iona prijelaznih kovina (Ferrali i sur., 1997), aktiviranja antioksidacijskih enzima (Elliott i sur., 1992) te inhibiranja oksidaza (Cos i sur., 1998). Voće je bogat izvor polifenolnih spojeva koji nisu esencijalni za ljudsko zdravlje, ali imaju biološko djelovanje u ljudskom organizmu (Kaur i Kapoor, 2001). Polifenolni profil jabuke čine derivati hidroksicimetne kiseline, monomeri i oligomeri flavan-3-ola, flavonoli i dihidroksikalkoni. Glavni predstavnik derivata hidroksicimetne kiseline je 5'-kafeoil kininska kiselina (klorogenska kiselina). Monomerni oblici flavan-3-ola su (-)-epikatehini, dok se oligomerni i polimerni oblici jednom riječju nazivaju procijanidini. Procijanidin B2, koji je izgrađen iz dvije jedinice epikatehina, je glavni predstavnik flavan-3-ola u jabuci. Flavonoli i dihidroksikalkoni prisutni su mnogo različitih oblika u jabuci, ali u nešto nižim koncentracija nego što su prisutni derivati hidroksicimetne kiseline i monomeri i oligomeri flavan-3-ola (Guyot i sur., 1998). U tablici 3. prikazan je sastav polifenola u komercijalnom soku od jabuke, soku pripremljenom od kultivara Jonagold i Elsta (*Malus sylvestris*).

**Tablica 3.** Sastav polifenola (mg/L) u uzorcima soka od jabuke (Schieber i sur., 2001)

Spoj	Komercijalni sok	Sok kultivara Jonagold	Sok kultivara Elsta
<b>Procijanidin B1</b>	2.3	-	-
<b>Katehin</b>	3.5	-	2.8
<b>p-kumarin glukoza</b>	1.7	-	-
<b>Klorogena kiselina</b>	130.0	32.0	10.0
<b>p-kumarin kininska kiselina</b>	23.0	3.8	5.0
<b>Procijanidin B2</b>	9.1	0.6	3.2
<b>Kafeinska kiselina</b>	5.1	-	-
<b>Epikatehin</b>	12.0	5.4	15.0
<b>p-kumarinska kiselina</b>	0.6	-	-
<b>Kvercetin-3-galaktozid</b>	1.5	0.7	1.0
<b>Kvercetin-3-glukozid</b>	1.5	0.7	1.0
<b>Kvercetin-3-ksilozid</b>	1.0	0.3	0.6
<b>Kvercetin-3-ramnozoid</b>	0.9	0.4	0.1
<b>Floretin-2'-ksiloglukozid</b>	11.0	1.4	1.6
<b>Kvercetin</b>	1.2	-	-
<b>Floretin</b>	24.0	4.9	5.9

\*-' spoj nije identificiran

## 2.2.5. Aromatski profil soka od jabuke

Aroma je smjesa spojeva, koji isparavaju s vodom, vodenom parom ili inertnim plinom, koja daje nezamjenjivu osjetilnu karakteristiku određene biljne vrste ili sorte. U kemijskom smislu to su smjese različitih terpena, alkohola, aldehyda, ketona, estera, fenola, karboksilnih kiselina, smola, voskova i njima sličnih tvari. Spojevi odgovori za jedinstven aromatski profil jabuka su hlapljivi aromatski spojevi, od kojih su u najvišoj koncentraciji prisutni esteri (78–92% od ukupnih hlapljivih tvari), alkoholi (6–16 % od ukupnih hlapljivih tvari), aldehydi, ketoni i eteri (Braga i sur., 2013). Danas je aroma prehrambenih proizvoda postala važan parametar kvalitete proizvoda. Aromatski profil soka od jabuke ovisi o sorti jabuke, tehnološkom procesu proizvodnje i uvjetima skladištenja. Najzastupljeniji spojevi

arome u soku od jabuke su n-butanol, n-butilacetat, n-heksanol, n-heksil acetat, 3-metilbutanol i 2-metilbutil acetat, a puni aromatski sastav je prikazan u tablici 4.

**Tablica 4.** Aromatski profil soka od jabuke (Young i sur., 1996)

Spoj	Koncentracija ( $\mu\text{g/g}$ )
etanol	1.51
propil acetat	0.32
2-metilpropil acetat	0.07
propanol	2.72
n-butilacetat	13.06
2-metil propanol	0.59
2-metilbutil acetat	2.59
n-butil propanoat	0.04
n-butanol	38.79
n-pentil acetat	0.25
2-metilbut-3-enil acetat	0.01
3-metilbutanol	2.96
3-methylbut-3-enil acetat	0.01
3-methylbut-3-enol	0.01
3-methylbut-2-enil acetat	0.01
n-pentanol	0.23
n-heksil acetat	4.98
E-heks-3-enil acetat	0.01
Z-heks-3-enil acetat	0.01
heks-4-enil acetat	0.29
E-heks-2-enil acetat	1.06
n-heksanol	5.82
Z-heks-3-enol	0.71
E-heks-2-enol	0.01
n-heksil-2-methylbutanoat	0.01
n-heptanol	0.03
kamfor	0.02
n-oktanol	0.11
n-okt-2-enol	0.02
1 -methoksi-4-(2-propenil)-benzen	0.44

### **2.3. Primjena tretmana hladnom plazmom na sok od jabuke**

Brojnim istraživanjima dokazano je da je visokonaponsko električno pražnjenje pogodna za inaktivaciju mikroorganizama na površinama hrane, raznim ambalažnim materijalima i prehrambeno-procesnoj opremi, međutim znatno je manje pažnje posvećeno inaktivaciji mikroorganizama u tekućim prehrabbenim proizvodima. Schlüter i sur. (2013) u preglednom radu navode tretman hladnom plazmom kao alternativu konvencionalnim tretmanima, posebice za prehrambene proizvode poput svježeg voća i povrća, mesa i jaja koji su osjetljivi na termalne postupke. Kao glavnu prednost tretmana hladnom plazmom Schlüter i sur. navode visoku efikasnost pri niskim temperaturama. Učinkovitost tretmana ovisi o specifičnim svojstvima proizvoda. Dovod energije, zagrijavanje proizvoda i distribucija energije jednako su važni čimbenici koji utječu na učinkovitost tretmana hladnom plazmom kao i svojstva proizvoda, sastav, geometrija te je li proizvod tretiran u cijelovitom obliku, komadima, u obliku praha ili tekućine. Neka istraživanja pokazuju da je netermalnim plazma tretmanom moguće postići mikrobnu redukciju od 8 log jedinica. U tablici 5 prikazan je učinak tretmana hladnom plazmom na redukciju mikrobne populacije u pojedinoj hrani.

**Tablica 5..** Učinak hladne plazme na redukciju mikrobne populacije u pojedinoj hrani  
(Schluter i sur., 2013)

Vrsta proizvoda	Redukcija mikrobne populacije (log jedinice)
Špinat	5.8
Jagoda	4.0
Jabuka	2.9-3.7
Limun	1-2.5.0
Slatka paprika	0.8-2.0
Bademi	1.8-5.0
Procesirana šunka	0.2-1.7
Jaja	4.5
Pileća prsa	0.5-3.0

Hladno dimljeni losos	1.0–5.0
Slanina	1.0–4.6
Sok od naranče	5.0
Sok od jabuke	7.0

Schilling i sur. (2008) usporedili su utjecaj konvencionalne pasterizacije i alternativnog tretmana hladnom plazmom na kvalitetu soka od jabuke i inaktivaciju enzima. Istraživanje je provedeno u laboratorijskim uvjetima i u simulaciji uvjeta industrijskih razmjera. Enzimska aktivnost praćena je s aktivnošću peroksidaza i polifenol oksidaza, a kvaliteta soka je kontrolirana praćenjem ukupnih topljivih tvari, pH vrijednosti, gustoće i ukupne kiselosti koja je kasnije preračunata u limunsку kiselinu. Iz dobivenih rezultata prikazanih u tablici 6 vidljivo je da metoda konzerviranja ne utječe na glavni sastav soka od jabuke.

**Tablica 6.** Utjecaj pasterizacije i hladne plazme na glavni sastav i svojstva soka od jabuke  
(Schilling i sur., 2008)

Svojstvo \ Uzorak	Kontrolni (svježi sok)	PT <sub>1</sub> (tretirani plazmom)	PT <sub>2</sub> (tretirani plazmom)	PT <sub>3</sub> (tretirani plazmom)	Pasterizirani
pH	3.55	3.54	3.53	3.54	3.50
Gustoća (g/cm <sup>3</sup> )	1.05	1.05	1.05	1.05	1.05
Ukupna kiselost (g/L)	4.85	4.85	4.87	4.88	4.96
Ukupna topljiva tvar( °Brix)	12.66	12.69	12.63	12.38	12.76
Saharoza (g/L)	38.95	39.29	41.41	39.29	39.90
Glukoza (g/L)	13.94	14.11	13.92	14.11	15.65
Fruktoza (g/L)	53.60	54.05	53.00	53.68	56.07
L-jabučna kiselina (g/L)	6.11	6.44	6.25	6.40	6.38
D-sorbitol (g/L)	6.43	6.20	6.72	6.42	6.67
Na (mg/L)	4.00 ± 0.70 x	3.20±0.00 x	18.30±0.70a	4.10±0.00 x	2.7±0.0 x
K (mg/L)	625.80±3.80 x	618.1±3.40x	621.60±0.40 a	620.60±0.50 x	616.30±4.30 x
Mg (mg/L)	20.40±0.10 x	20.30±0.10x	21.10±0.00a	20.40±0.10x	20.40±0.10x
Ca (mg/L)	18.40±0.20 xy	19.00±0.30 x	16.50±0.10a b	18.8±0.10xy	17.90±0.10y

Fe (mg/L)	0.17±0.00 z	0.17±0.00z	0.20±0.01a	0.20±0.00y	0.25±0.00x
Aspartanska kiselina(mg/L)	77.90±1.33 x	77.5±2.13x	97.00±12.60 a	78.10±2.37x	80.30±0.89x
Asparagin (mg/L)	48.20±0.63 x	51.2±0.61x	93.50±0.44a	51.40±3.21x	68.60±1.21y
Glutaminska kiselina(mg/L)	66.00±3.84 y	69.0±0.07xy	83.00±12.30 a	86.40±3.31x	59.80±4.59y
Serin (mg/L)	11.80±0.39x	11.9±0.39x	15.90±0.16a	11.70±0.44x	13.10±0.16x
Treonin (mg/L)	4.60±0.06x	4.7±0.14x	5.20±0.04a	4.50±0.02x	4.90±0.05x
Prolin (mg/L)	5.00±0.01x	4.8±0.01x	5.40±0.15a	4.70±0.01x	5.30±0.28x
Valin (mg/L)	2.30±0.09x	2.2±0.12x	2.60±0.06a	2.20±0.14x	2.30±0.01x
Glicin (mg/L)	0.90±0.08x	1.0±0.02x	1.20±0.10a	0.90±0.00x	1.00±0.05x
Izoleucin (mg/L)	2.50±0.03x	2.6±0.01x	2.60±0.030a	2.40±0.14x	2.50±0.04x

\*Vrijednosti s istim slovom a-b i x-y nisu značajno različite (p <0,05).

Gachovska i sur. (2008) proveli su istraživanje u kojem su ispitali potencijal hladne plazme i ultraljubičastog zračenja za inaktivaciju bakterije *Escherichia coli* (*E. coli*) u soku od jabuka. Uzorci soka od jabuke tretirani su ultraljubičastim zračenjem, hladnom plazmom, te kombinacijom ultraljubičastog zračenja i hladne plazme. Iz rezultata provedenih eksperimenata može se zaključiti da se povećanjem doze UV zračenja, koja je u funkciji vremena trajanja tretmana, povećava i inaktivacija *E. coli*. Također, povećanjem energije tretmana hladnom plazmom, odnosno električnog polja, povećava se inaktivacija *E. coli*. Maksimalna redukcija od 3,46 log jedinica zabilježena je za UV tretman uz korištenje kvarcne cijevi duljine 50 cm i protok 8 mL/min. Značajna redukcija populacije *E. coli* od 4,87 log jedinica zabilježena je nakon tretmana hladnom plazmom.

Surowsky i sur. (2014) istražili su mogućnost hladne plazme da inaktivira *Citrobacter freundii* u soku od jabuka. Princip tretmana baziran je na visokofrekventivnoj pobudi elektrona Korišteni plinovi su bili argon (čistoće  $\geq 99.999\%$ ) i mješavina argona s 0.025–0.1% kisika s protokom od 5 slm (standard litre per minute,  $8.44375 \text{ (Pa}^*\text{m}^3\text{)}/\text{s}$ ). Sok je bio izložen djelovanju hladne plazme u vremenskom rasponu od 0 do 480 s. Rezultati istraživanja pokazali su da je tretiranjem soka od jabuke s hladnom plazmom, u trajanju od 480 s uz korištenje argona i 0,1 % kisika te skladištenjem 24h moguće postići redukciju *Citrobacter freundii* od 5 log jedinica. Također, zabilježeno je da dulje vrijeme trajanja tretmana, više koncentracije kisika i dulje vrijeme skladištenja soka nakon tretmana dovode do boljih rezultata inaktivacije.

## **2.4. Opći i specifični ciljevi rada**

Cilj ovog rada je utvrditi utjecaj hladne plazme na senzorska i fizikalno-kemijska svojstva soka od jabuke.

Specifični ciljevi ovog rada su:

- utvrditi utjecaj hladne plazme na pH, temperaturu, konduktivnost i boju soka od koncentriranog soka od jabuke
- utvrditi utjecaj hladne plazme na antioksidacijski kapacitet soka od koncentriranog soka od jabuke
- utvrditi utjecaj hladne plazme na aromatski profil soka od koncentriranog soka od jabuke
- utvrditi utjecaj hladne plazme na senzorska svojstva soka od koncentriranog soka od jabuke.

### **3. MATERIJALI I METODE**

#### **3.1. Materijali**

##### **3.1.1. Sirovine za pripremu soka od koncentriranog soka od jabuke**

Za pripremu soka od koncentriranog soka od jabuke korištene su slijedeće sirovine:

###### **1.Koncentrirani voćni sok od jabuke**

Korišten je koncentrirani sok od jabuke -  $70 \pm 0,5$  °Bx (Dona trgovina d.o.o., Matije Gupca 10, G. Stubica, Hrvatska). Fizikalno-kemijski i mikrobiološki parametri korištenog koncentriranog voćnog soka su u skladu sa Pravilnikom o voćnim sokovima i njima srodnim proizvodima namijenjenim za konzumaciju (NN 48/2013) kao i Vodičem za mikrobiološke kriterije za hranu (3. izmijenjeno izdanje, ožujak 2011.). Suha tvar pripremljenog soka iznosi  $11 \pm 1$ ° Brix-a. Topljiva suha tvar određuje se pomoću refraktometra MoM Gyem (Budapest, N2.61674)

###### **2.Voda**

U svrhu pripreme soka korištena je voda čiji su parametri kvalitete u skladu sa zahtjevima Pravilnika o zdravstvenoj ispravnosti vode za piće NN 47/08.

##### **3.1.2.Označavanje uzorka**

Oznake uzorka označavaju kojom vrstom hladne plazme je uzorak tretiran. Svi uzorci označavani su slijedećom metodologijom:

**Tablica 7.** Metodologija označavanja uzorka

<b>OSNOVNA OZNAKA UZORKA</b>	<b>VRSTA TRETMANA</b>
<b>N</b>	netretirani
<b>PAS</b>	pasterizirani
<b>P</b>	plinska hladna plazma
<b>TM</b>	tekućinska hladna plazma s mjehurićima
<b>PM</b>	plinska hladna plazma s mjehurićima

Uzorcima je uz osnovnu oznaku pridodana i oznaka kojom je obilježen polaritet hladne plazme, oznaka '+' označava pozitivan, a '-' negativan polaritet.

### **3.2. Metode rada**

#### **3.2.1. Provedba eksperimenta**

Iz pripremljenog soka jabuke, uzeti su volumeni od 200 ml za svaki od navedenih tretmana hladnom plazmom. Uzorak netretiranog soka (N) spremi se u hladnjak na skladištenje pri 4°C. Za pripremu uzorka pasteriziranog soka (PAS), u menzuru se ulije 200 mL soka te prenese u laboratorijsku čašu. U vodenoj kupelji, vrši se pasterizacija na način da se, nakon što temperatura dosegne 80°C, termička obrada vrši 2 minute. Nakon pasterizacije sok se prelije u plastičnu posudicu i spremi se u hladnjak na skladištenje pri 4°C. Provedeni su tretmani pri oba polariteta plazme (pozitivan i negativan) počevši s plinskom plazmom, zatim tekućinskom plazmom s mjehurićima, te kombinacijom plinske palzme i upuhivanih mjehurića. Svim uzorcima su izmjereni pH, temperatura i konduktivnost prije i poslije tretmana. Tretiranim uzorcima određivan je aromatski profil, antioksidacijski kapacitet, boja i prisutnost metala.

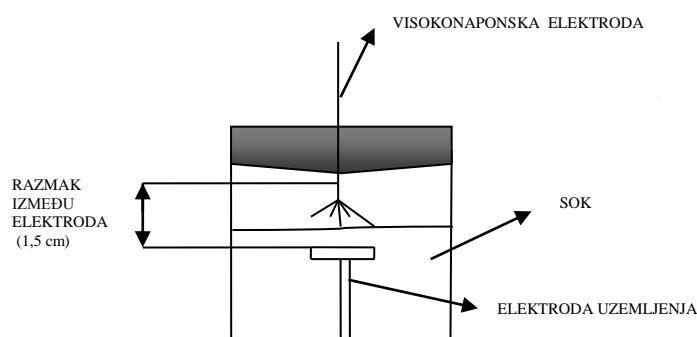
Za generiranje plazme korišten je pulsni visokonaponski generator (Spellman, UK). Tijekom eksperimenta frekvencija je bila konstantna, 90Hz, dok je izlazni napon varirao ovisno o vrsti tretmana. Napon je mјeren naponskom sondom Tektronix P6015A spojenim na osciloskop Hantek DS05202BM. Reaktori su bili volumena 500 ml, s gumenim čepom s prilagođenim otvorima za elektorde ovisno o vrsti tretmana. Konfiguracija elektroda u reaktoru bila je postavljena u obliku točka-ploča, odnosno s igličnom visokonaponskom elektrodom, te pločastom elektrodom uzemljenja od nehrđajućeg čelika promjera 4,5 cm.

Tijekom tretmana plinskom plazmom elektroda uzemljenja nalazila se na donjoj strani reaktora, a iglična elektroda (titan) s gornje strane reaktora, iznad uzorka soka (slika 2).

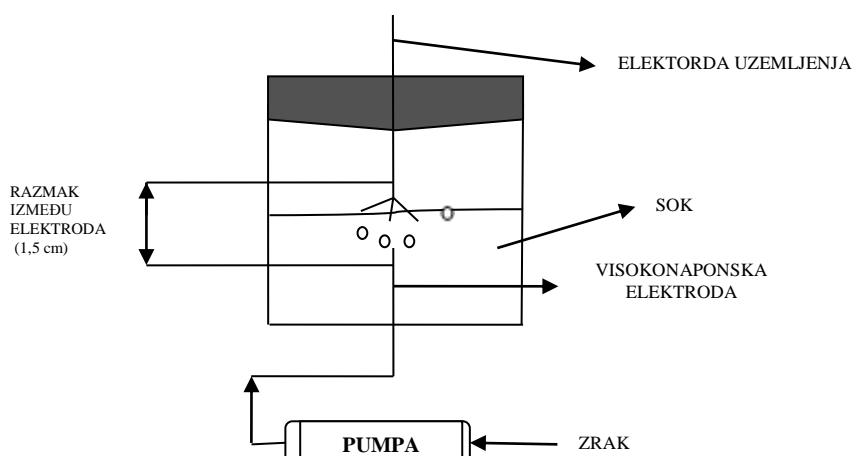
Prilikom tretmana plinskom hladnom plazmom uz upuhivanje mjehurića zraka iglična visokonaponska elektroda (igla od nehrđajućeg čelika Microlance TM 3,81 cm) se nalazila s donje strane reaktora. Kroz visokonaponsku elektrodu je upuhivan zrak (protok = 0,6 L/min), koji je ujedno omogućavao i mješanje uzorka, dok je s gornje strane reaktora uvedena elektorda za uzemljenje bez pločice (slika 3). Ovaj tip reaktora omogućuje pojavu pražnjenja

na vrhu elektrode u tekućini, te po površini, gdje se izboji šire po mjehurićima upuhivanog plina na površini soka.

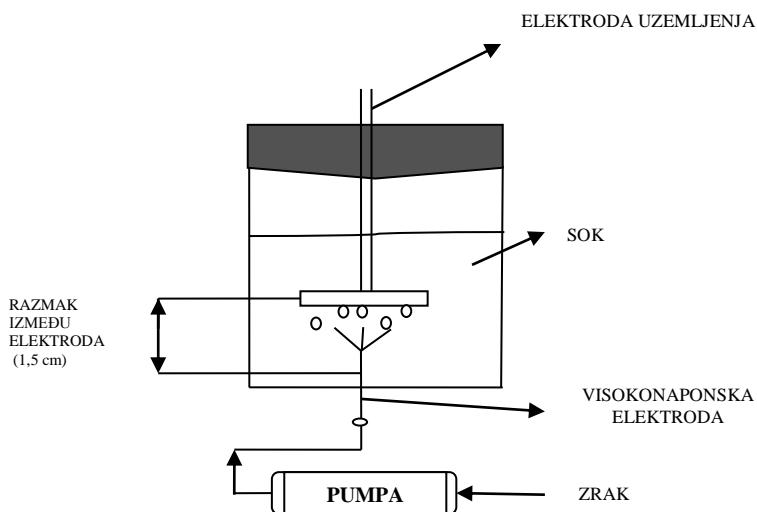
U slučaju tretmana tekućinskom hladnom plazmom uz upuhivanje mjehurića zraka elektroda uzemljenja nalazila se na gornjoj strani reaktora, a iglična elektroda (igla od nehrđajućeg čelika Microlance TM 3, 81 cm) s donje strane reaktora te je kroz nju upuhivan zrak (slika 4). U sve tri konfiguracije udaljenost između visokonaponske elektrode i elektrode uzemljenja je bila 1,5 cm. Vrijeme tretiranja je bilo 10 min.



**Slika 2.** Shematski prikaz položaja elektrodi u reaktoru za tretman plinskem plazmom (vlastita shema)



**Slika 3.** Shematski prikaz položaja elektrodi u reaktoru za tretman plinskem plazmom s mjehurićima (vlastita shema)



**Slika 4.** Shematski prikaz položaja elektrodi u reaktoru za tretman tekućinskom plazmom s mjehurićima (vlastita shema)

### 3.2.2. Određivanje pH-vrijednosti

Mjerenje pH-vrijednost netretiranog uzorka, kao i svih tretiranih uzoraka vrši se na digitalnom pH-metru (pH 340i/SET, WTW, Weilheim, Germany). Mjerenje se provodi uranjanjem elektrode u uzorak i nakon stabilizacije, pH-vrijednost se očita na ekranu uređaja.

### 3.2.3. Određivanje konduktivnosti

Mjerenje konduktivnosti netretiranog uzorka, kao i svih tretiranih uzoraka vrši se na digitalnom konduktometru ( $\lambda$  340i/SET, WTW, Weilheim, Germany). Mjerenje se provodi uranjanjem kombinirane elektrode u uzorak i nakon stabilizacije, konduktivnost se očita na ekranu uređaja.

### 3.2.4. Određivanje temperature

Mjerenje temperature netretiranog uzorka, kao i svih tretiranih uzoraka vrši se digitalnim infracrvenim termometrom (InfraRed Tehrmometer, PCE-777, PCE Instruments). Mjerenje se provodi direktnim pozicioniranjem termometra iznad uzorka, te očitanjem temperature s ekrana uređaja.

### **3.2.5. Određivanje parametara boje po CIELAB sustavu**

Objektivno mjerjenje boje temelji se na parametrima trodimenzionalnog spektra boja ( $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ ), korištenjem uređaja koji rade na principu mjerena stupnja reflektirane svjetlosti od mjerne površine. Parametar  $L^*$  je mjera svjetlosti iskazana vrijednostima od 0 do 100 (0 = crno; 100 = bijelo). Vrijednost  $a^*$  je iskazana vrijednostima od -60 do 60, a iskazuje spektor od crvene (pozitivne vrijednosti) do zelene (negativne vrijednosti) boje, pri čemu veća pozitivna vrijednost  $a^*$  parametra karakterizira crveniju boju. Vrijednost  $b^*$  parametra ukazuje na spektor nijansi između žute i plave boje, a njegova veća vrijednost označava izraženost žutog dijela spektra (McGuire, 1992). Kombinacijom  $a^*$  i  $b^*$  vrijednosti dobiva se boja uzorka, pri čemu  $L^*$  predstavlja svjetlinu te boje. Tako se iz vrijednosti  $a^*$  i  $b^*$  mogu izračunati vrijednosti za ton boje ( $H^\circ$ ) i zasićenost boje (C). Vrijednost  $H^\circ$  predstavlja vizualni doživljaj boje ( $0^\circ - 90^\circ$  je crveno–narančasta boja,  $90^\circ - 180^\circ$  je žuto–zelena,  $180^\circ - 270^\circ$  plavo–zelena, a od  $270^\circ$  do  $360^\circ$  plavo–ljubičasta boja), a C vrijednost predstavlja intenzitet ili zasićenost boje (što su vrijednosti niže, zasićenost boje je slabija). Netretiranom i tretiranim uzorcima su izmjerene  $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$  vrijednosti CIELAB metodom (CIE, 1976). Korišten je kolorimetar CM-3500d (Konica Minolta, Japan). Prije mjerjenja kolorimetar je baždaren bijelom i crnom pločicom isporučenima s instrumentom.

### **3.2.6. Ekstrakcija fenolnih spojeva**

Za određivanje antioksidacijskog kapaciteta u netretiranom i tretiranim uzorcima proveden je postupak ekstrakcije fenolnih spojeva. 2 mL soka pomiješa se sa 7 mL 1%-tne mravlje kiseline u 80%-tnom metanolu te se ekstrahira u ultrazvučnoj kupelji (Bandelin Electronic GmbH&CO. KG, Njemačka) pri  $50^\circ\text{C}/15$  minuta. Nakon provedene ultrazvučne ekstrakcije, ekstrakt se profiltrira kroz filter papir Whatman br. 40 (Whatman International Ltd., Velika Britanija) u odmjernu tikvicu od 10 mL i nadopuni 30%-tним etanolom do oznake. Ekstrakt svakog uzorka pripreman je u dvije paralele.

### **3.2.7. Određivanje antioksidacijskog kapaciteta DPPH metodom**

#### Princip određivanja:

Protokolom je definirana metoda određivanja antioksidacijskog kapaciteta DPPH metodom. Ova metoda razvijena je za određivanje antioksidacijske aktivnosti spojeva u hrani uporabom stabilnog 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil radikala. DPPH radikal zbog nesparenog elektrona postiže apsorpcijski maksimum u vidljivom dijelu spektra (517 nm) i ljubičaste je boje. Promjena ljubičaste boje u žutu posljedica je sparivanja nesparenog elektrona DPPH radikala s vodikom antioksidanta, stvarajući reducirani oblik DPPH-H. Promjena boje je u stehiometrijskom odnosu s brojem sparenih elektrona (Prior i sur., 2005; Braca i sur., 2001).

#### Priprema reagensa:

- 1) 0,5 mM otopina DPPH 0,02 g 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil radikala (DPPH) se odvaze u plastičnoj lađici za vaganje te kvantitativno prenese i otopi u 100 %-tnom metanolu te nadopuni do oznake 100 %-tnim metanolom u odmernoj tikvici od 100 mL.

#### Postupak određivanja:

U epruvetu se otpipetira redom 2 mL ekstrakta prethodno razrijeđenog metanolom u omjeru 1:10 (postupak ekstrakcije opisan u poglavlju 3.2.7.), 2 mL metanola i 1 mL 0,5 mM otopine DPPH. U drugu epruvetu otpipetira se 4 mL metanola i 1 mL 0,5 mM otopine DPPH, što predstavlja kontrolni uzorak. Sadržaj se promiješa i ostavi stajati 20 minuta u mraku na sobnoj temperaturi nakon čega se mjeri apsorbancija na 517 nm uz metanol kao slijepu probu.

#### Račun:

Antioksidacijski kapacitet uzorka računa se prema formuli

$$S(\%) = 100 - \left( \frac{A_x}{A_0} * 100 \right)$$

gdje je

S-antioksidacijski kapacitet

A<sub>x</sub>-izmjerena apsorbancija uzorka

A<sub>0</sub>-izmjerena apsorbancija kontrolnog uzorka.

### **3.2.8. Određivanje antioksidacijskog kapaciteta ABTS metodom**

#### Princip određivanja:

Protokolom je definirana metoda određivanja antioksidacijskog kapaciteta ABTS metodom. Ova metoda temelji se na gašenju stabilnog plavo-zelenog radikal-kationa 2,2`-azinobis(3-etylbenzotiazolin-6-sulfonska kiseline) (ABTS<sup>+</sup> radikal-kationa), koji se formira bilo kemijskom ili enzimskom oksidacijom otopine ABTS-a, čiji je karakterističan absorpcijski maksimum pri valnoj duljini od 734 nm. U prisutnosti antioksidanta ABTS<sup>+</sup> kation se reducira u ABTS, a reakcija se očituje obezbojenjem plavo-zelene otopine. Udio uklonjenih ABTS radikala koje „gase“ različiti antioksidanti mjeri se praćenjem smanjenja apsorbancije ABTS radikala te se uspoređuje sa smanjenjem apsorbancije koju uzrokuje dodatak određene količine Troloxa (6-hidroksi-2,5,6,7,8-tetrametilkroman-2-karbonska kiseline) pri istim uvjetima (Miller i sur., 1993; Re i sur., 1999).

#### Priprema reagensa:

1. dan:

- 140 mM otopina kalijeva persulfata, K<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>8</sub> (0,1892 g K<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>8</sub> izvaze se u tikvicu od 5 mL i otopi u destiliranoj vodi).
- 7 mM ABTS otopina (0,0192 g ABTS reagensa otopi se u tikvici od 5 Ml te se nadopuni destiliranom vodom do oznake).
- stabilna ABTS<sup>+</sup> otopina (88 µL K<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>8</sub> otopine prenese se u tikvicu od 5 mL u kojoj se nalazi ABTS otopina. Dobro se promiješa, zatvori i čuva na sobnoj temperaturi u mraku 12-16 sati, zamotano u Al-foliju. Konačna koncentracija K<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>8</sub> pri tome je 2,45 mmol/L).

2.dan:

Na dan provođenja analiza, priprema se 1 %-tna otopina ABTS<sup>+</sup> (1 mL ABTS<sup>+</sup> otopine otpipetira se u odmjernu tikvicu od 100 mL i nadopuni etanolom do oznake). Koncentracija pripremljenog ABTS<sup>+</sup> radikala podešava se tako da apsorbancija na 734 nm iznosi 0,70 ±0,02 .

#### Postupak određivanja:

U epruvetu se otpipetira redom 160 µL ekstrakta (postupak ekstrakcije opisan u poglavljju 3.2.7.) i 1 mL 1 %-tne otopine ABTS<sup>+</sup>. Sadržaj se promiješa te se nakon 1 min mjeri apsorbancija na 734 nm uz etanol kao slijepu probu.

### Račun:

Antioksidacijski kapacitet uzorka računa se prema formuli:

$$y = -0.00219x + 0.678662$$

gdje je

y-izmjerena apsorbancija uzorka

x-koncentracija Trolox-a u mM.

### **3.2.9. Određivanje aromatičnih spojeva primjenom plinske kromatografije s masenom spektrometrijom (GC-MS)**

U uzorcima netretiranog, pasteriziranog i tretiranog hladnom plazmom soka od koncentriranog soka jabuke određeni su aromatični spojevi primjenom plinske kromatografije s masenom spektrometrijom (GC-MS). Ekstrakcija aromatičnih spojeva provedena je mikroekstrakcijom vršnih para na čvrstoj fazi (Headspace Solid-Phase Microextraction; HS-SPME). Vrijeme i temperatura za HS-SPME određeni su na temelju prethodnih ispitivanja različitih temperatura i vremena ekstrakcije. Nakon provedene HS-SPME, identifikacija i kvantifikacija izdvojenih aromatičnih spojeva provedena je primjenom plinskog kromatografa s masenom spektrometrijom.

#### **3.2.9.1. Priprema uzorka**

U staklenu bočicu (vial) od 20 mL odpipetira se 1,5 ml uzorka soka i 1 g natrijeva klorida. Doda se magnet za miješanje te zatvori PTEF septumom. Pripremljen uzorak postavi se u vodenu kupelj temperature 40 °C.

#### **3.2.9.2. HS-SPME ekstrakcija**

Za HS-SPME korišteno je SPME vlakno obloženo polidimetilsilosanom (PDMS) punilom debljine 100 µm (Supelco, SAD). Prije prve upotrebe vlakno je predkondicionirano 1 sat/250 °C, a prije ekstrakcija vlakno je očišćeno 15 min/250 °C. Iglom za SPME probuši se PTEF čep na vialu s uzorkom te se iz igle istisne vlakno u prostor iznad uzorka (headspace). Za vrijeme ekstrakcije vrši se adsorpcija aromatičnih spojeva iz uzorka na stacionarnu polimernu fazu vlakna. Ekstrakcija se provodi na 40 °C/45 min uz neprestano miješanje na magnetskoj miješalici. Nakon ekstrakcije, vlakno se odmah prebaci u injektor plinskog kromatografa s masenim spektrometrom.

### **3.2.9.3. Plinska kromatografija s masenom spektrometrijom (GC-MS)**

Identifikacija i određivanje kvantitativnog udjela aromatičnih spojeva u uzorcima netretiranog, pasteriziranog i tretiranog hladnom plazmom soka od koncentriranog soka jabuke provedeno je primjenom plinske kromatografije s masenom spektrometrijom na plinskom kromatografu (GC) 6890N s 5975i masenim spektrometrom (MS) (Agilent Technologies, SAD). Određivanje pojedinačnih aromatičnih spojeva u uzorcima provedeno je metodom koju su opisali Marušić i sur. (2011) uz određene modifikacije. Odmah po završetku ekstrakcije, vlakno se prebaci u injektor, gdje se adsorbirani analiti pod utjecajem visoke temperature desorbiraju s vlakna. Određivanje je provedeno prema sljedećim kromatografskim uvjetima:

*Kromatografski uvjeti:*

**Kolona:** ZB-5MS, 30 m×0.25 mm ID × 0.25 µm (Phenomenex, SAD)

**Plin nosioc:** helij

**Protok:** 1.7 mL/min

**Temperatura injektora:** 250 °C

**Radno područje (mode):** splitless

**Vrijeme desorpcije:** 2 min

**Temperatura detektora:** 250 °C

**Temperatura prijelazne linije (transfer line):** 280 °C

**Temperaturni program:** 50 °C , bez zadržavanja

50 – 190 °C, 3 °C/min

190 – 240 °C, 25 °C/min

240 °C, 2 min

Energija elektrona za ionizaciju molekula uzorka bila je 70 eV. Parametri masenog spektrometra postavljeni su na brzinu očitanja 1 očitanje/s (scan/s), a opseg razdvajanja mase i naboja (m/z) u rasponu 50 – 450. Kako bi se izračunao retencijski indeks izdvojenih aromatičnih spojeva pripremljena je standardna smjesa C8 – C20 alkana (Sigma-Aldrich Co., SAD) i analizirana pod istim kromatografskim uvjetima kao i uzorci.



**Slika 5.** Agilent Technologies plinski kromatograf 6890N s 5975i masenim spektrometrom  
(vlastita fotografija)

### **3.2.9.4. Identifikacija i kvantifikacija aromatičnih spojeva**

Identifikacija aromatičnih spojeva provedena je usporedbom masenih spektara izdvojenih aromatičnih spojeva s onima u bazi podataka NIST 2005, ver. 2.0 (NIST, Gaithersburg, MD, SAD). Kvantitativni udio izdvojenih aromatičnih spojeva izražen je kao udio površine u ukupnoj aromi uzorka izračunat pomoću internog standarda 3-dekanola.

### **3.2.10. Određivanje prisutnosti metala**

Prisutnost metala određivana je metodom atomske apsorpcijske spektrometrije na Nastavnom Zavodu za javno zdravstvo Primorsko-goranske županije. Za određivanje željeza i cinka korištena je metoda plamene atomske apsorpcijske spektrometrije (HRN ISO 8288:1998), a za određivanje mangana je korištena metoda grafitne atomske apsorpcijske spektrometrije (HRN ISO 15586:2008).

### **3.2.11. Senzorsko ocjenjivanje kvantitativnom deskriptivnom analizom (QDA)**

Za određivanje pojedinih senzorskih svojstava tretiranih sokova od koncentriranog soka od jabuke provedena je kvantitativna deskriptivna analiza (QDA). Senzorske analize

provedene su u specijaliziranom i odgovarajućem opremljenom, temperiranim i osvijetljenom senzorskom Laboratoriju. Senzorsko ispitivanje provela je panel grupa od 10 senzorskih analitičara. Ocjenjivanje se provodilo upitnikom koji je uključivao opise senzorskih svojstava soka od koncentriranog soka od jabuke, a prije ocjenjivanja korigiran je prema dogovoru svih panelista u svrhu definiranja njegove razumljivosti i primjenjivosti u ovom istraživanju. Ispitivano je 14 senzorskih svojstava za svaki uzorak tretiranog soka (tablica 8). Intenzitet svakog svojstva izražen je pomoću skale intenziteta od 0 (odsutnost percepcije) do 10 (vrlo intenzivna percepcija). Prije ocjenjivanja uzorci su temperirani na sobnoj temperaturi te ponuđeni u kodiranim plastičnim čašicama.

**Tablica 8.** Ispitivana senzorska svojstva tretiranih sokova od koncentriranog soka od jabuke

Svojstvo	Opis
Boja	intenzitet bistroća
Miris	strani primiris (po kuhanom, oksidirani) miris po jabuci (karakterističan) miris- ukupni dojam
Aroma	karakteristična aroma za jabuku neugodna aroma (na metalno) ukupni dojam arome
Okus	kiseo sladak metalan po kemikalijama neugodan naknadni okus ukupni dojam okusa

## 4. REZULTATI

### 4.1. Izmjerene vrijednosti pH, konduktivnosti i temperature prije i poslije tretmana

U tablici 9 prikazane su izmjerene vrijednosti pH, konduktivnosti i temperature soka od koncentriranog soka od jabuke, prije i poslije tretmana.

**Tablica 9.** Izmjerene vrijednosti pH, konduktivnosti i temperature soka prije i poslije tretmana

Uzorak	pH <sub>prije</sub>	pH <sub>poslije</sub>	σ <sub>prije</sub> (μS/cm)	σ <sub>poslije</sub> (μS/cm)	T <sub>prije</sub> (°C)	T <sub>poslije</sub> (°C)
N	3,63	-	1649,00	-	18,50	-
PAS	3,63	-	1649,00	-	18,50	-
P(-)	3,62	3,57	1640,00	1632,00	17,20	24,90
TM(-)	3,62	3,62	1662,00	1612,00	17,50	25,40
PM(-)	3,62	3,55	1654,00	1605,00	17,10	22,10
P(+)	3,59	3,58	1652,00	1690,00	18,60	29,50
TM(+)	3,63	3,57	1646,00	1665,00	18,50	26,40
PM(+)	3,61	3,57	1649,00	1703,00	18,00	25,90

### 4.2. Boja

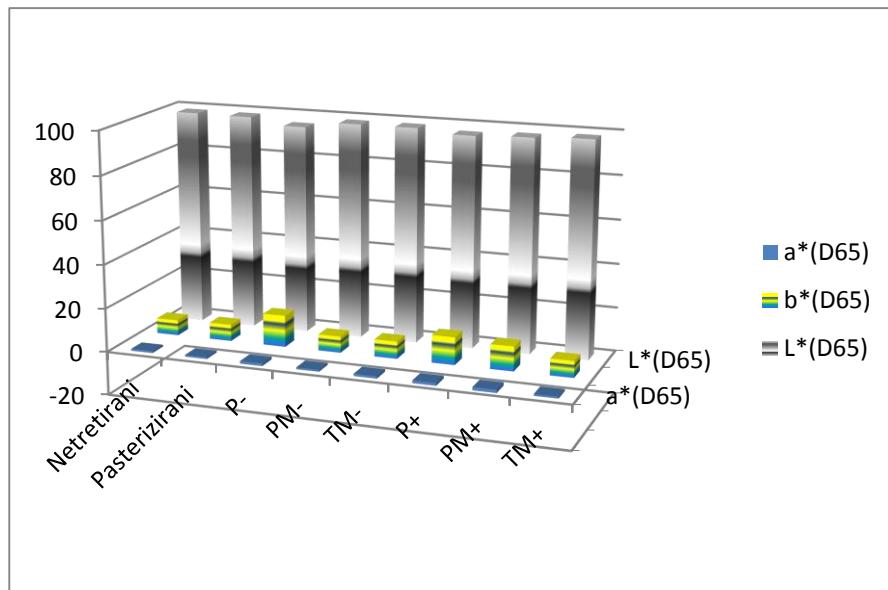
U tablici 10 prikazani su parametri boje. Parametri L, a\*, b\*, C, ΔL, Δa, Δb i H izmjereni su uređajem, a ostali parametri su izračunati.

**Tablica 10.** Parametri boje za netretirani i tretirani sok od koncentriranog soka od jabuke

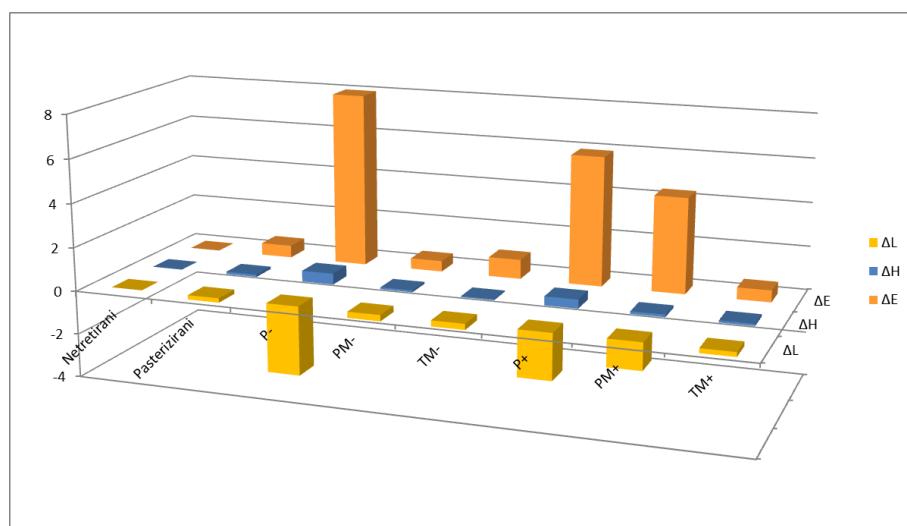
Parametar	N	PAS	P(-)	TM(-)	PM(-)	P(+)	TM(+)	PM(+)
L*(D65)	98,61	98,41	95,46	98,34	98,33	96,51	97,38	98,40
a*(D65)	-0,86	-0,82	-1,19	-1,05	-0,86	-1,27	-0,85	-1,45
b*(D65)	7,05	7,58	14,42	7,89	7,46	12,59	7,55	11,21
a <sup>2</sup>	0,74	0,67	1,42	1,10	0,74	1,61	0,72	2,10

<b>b<sup>2</sup></b>	49,70	57,46	207,94	62,25	55,65	158,51	57,00	125,66
<b>C</b>	7,11	7,63	14,47	7,96	7,51	12,65	7,60	11,31
<b>ΔL</b>	-	-0,20	-3,15	-0,27	-0,28	-2,10	-0,210	-1,23
<b>Δa</b>	-	0,04	-0,33	-0,19	0	-0,41	0,01	-0,59
<b>Δb</b>	-	0,53	7,37	0,83	0,41	5,54	0,5	4,16
<b>ΔL<sup>2</sup></b>	-	0,04	9,92	0,07	0,08	4,41	0,04	1,51
<b>Δa<sup>2</sup></b>	-	0,00	0,11	0,04	0,00	0,17	0,00	0,35
<b>Δb<sup>2</sup></b>	-	0,28	54,32	0,69	0,17	30,69	0,25	17,31
<b>ΔC</b>	-	0,52	7,36	0,85	0,4	5,54	0,49	4,20
<b>ΔC<sup>2</sup></b>	-	0,27	54,17	0,72	0,16	30,69	0,24	17,64
<b>ΔE</b>	-	0,57	8,02	0,89	0,49	5,94	0,54	4,38
<b>ΔE<sup>2</sup></b>	-	0,32	64,35	0,79	0,25	35,27	0,29	19,17
<b>H</b>	96,95	6,19	94,71	97,59	96,54	95,75	96,4	97,37
<b>ΔH</b>	-	0,11	0,51	0,05	0,09	0,41	0,10	0,12

Na slici 6 prikazan je grafički odnos parametara boje,  $a^*$ ,  $b^*$  i  $L^*$  tretiranog i netretiranog soka od koncentriranog soka od jabuke, a na slici 7 je grafički prikaz parametara  $\Delta L$ ,  $\Delta H$  i  $\Delta E$  tretiranog i netretiranog soka od koncentriranog soka od jabuke.



**Slika 6.** Grafički prikaz parametara  $a^*$ ,  $b^*$  i  $L^*$  netretiranog i tretiranog soka od koncentriranog soka od jabuke



**Slika 7.** Grafički prikaz parametara  $\Delta L$ ,  $\Delta H$  i  $\Delta E$  netretiranog i tretiranog soka od koncentriranog soka od jabuke

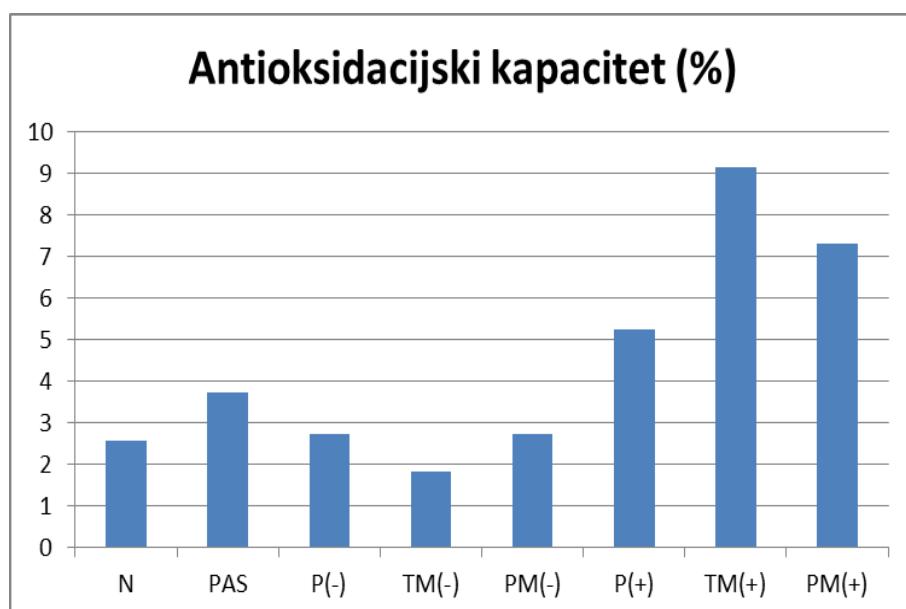
### 4.3. Antioksidacijski kapacitet

#### 4.3.1. Antioksidacijski kapacitet određen DPPH metodom

Izmjerene vrijednosti apsorbancije za pojedine uzorke tretiranog i netretiranog soka od koncentriranog soka od jabuke preračunate su formulom  $S(\%) = 100 - \left( \frac{A_x}{A_0} * 100 \right)$ . U tablici 11 i na slici 8 prikazan je antioksidacijski kapacitet pojedinih uzoraka, izračunat kao srednja vrijednost dviju izmjerena i formулом preračunatih vrijednosti, izražen u obliku %.

**Tablica 11.** Izračunate vrijednosti antioksidacijskog kapaciteta (%) određenog DPPH metodom

Uzorak	Antioksidacijski kapacitet (%)
N	2,564
PAS	3,735
P(-)	2,749
TM(-)	1,833
PM(-)	2,749
P(+)	5,240
TM(+)	9,142
PM(+)	7,302



**Slika 8.** Grafički prikaz antioksidacijskog kapaciteta (%) netretiranog i tretiranih uzoraka soka od koncentriranog soka od jabuke određenog DPPH metodom

#### 4.3.2. Antioksidacijski kapacitet određen ABTS metodom

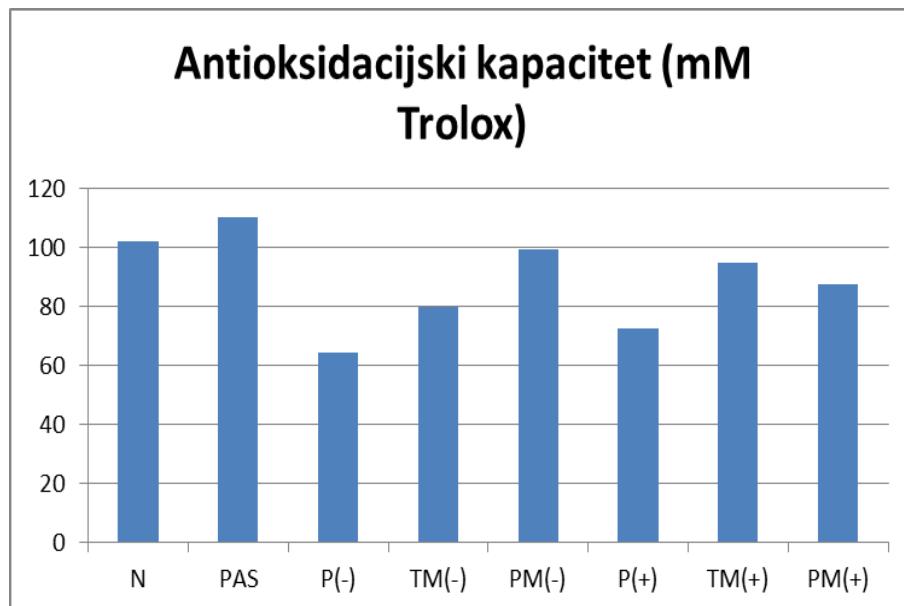
Izmjerene vrijednosti apsorbancije za pojedine uzorke tretiranog i netretiranog soka od koncentriranog soka od jabuke preračunate su formulom

$$x = \frac{0,67866202 - y}{0,00219107}$$

U tablici 12 i na slici 9 prikazan je antioksidacijski kapacitet pojedinih uzoraka, izračunat kao srednja vrijednost dviju izmjerena i formulom preračunatih vrijednosti, izražen kao mM Trolox-a.

**Tablica 12.** Izračunate vrijednosti antioksidacijskog kapaciteta izražene kao mM Trolox-a određenog ABTS metodom

Uzorak	Antioksidacijski kapacitet (mM Trolox)
N	102,0789
PAS	110,0659
P(-)	64,4261
TM(-)	79,7154
PM(-)	99,3405
P(+)	72,6412
TM(+)	94,7765
PM(+)	87,4742



**Slika 9.** Grafički prikaz antioksidacijskog kapaciteta (mM Trolox) netretiranog i tretiranih uzoraka soka od koncentriranog soka od jabuke određenog ABTS metodom

#### 4.4. Arome

U tablici 13 navedeni su identificirani spojevi arome i pripadajuća retencijska vremena.

**Tablica 13.** Identificirani spojevi arome s pripradajućim retencijskim vremenima

Retencijsko vrijeme (min)	Ime spoja
2.115	1-heksanol
4.889	1-heksil acetat
10.049	propil izocianid
11.049	n-heksil butirat
18.240	1-(2,6,6-trimetil-1,3-cikloheksadien)-2-buten-1-on
21.438	2,6-bis(1,1-dimetil)-2,5-cikloheksadien-1,4-dion
21.600	2,6-di(t-butil)-4-hidroksi-4-metil-2,4-cikloheksad
22.654	2-metil-5-(4'-metilfenil)sulfonil-4-nitroimidazol
23.600	2,4-bis-(1,1-dimetil) fenol
26.120	dodekanska kiselina
26.543	2-metil-, 1- (1,1-dimetiletin) -2-metil-1,3-propandiil ester propanske kiseline
30.931	2,2-dietil-3-okso-, etil ester maslačne kiseline
35.986	bis(2-metilpropil)-1,2-benzen dikarboksilna kiselina
36.532	3,4-dimetil-2,5-difenil-1,3,2-oksazaboralidin
39.022	1,2-benzendikarboksilne kiseline, butil-2-metilpropil ester

\*u tablici su navedena retencijska vremena identificiranih spojeva u netretretiranom uzorku, u tretiranim uzorcima ta vremena mogu malo varirati

\*\*u tablici su navedeni spojevi koji su određeni sa značajnim kvantitativnim udjelom

U tablici 14 prikazana je površina ispod pika izražena kao % od površine internog standarda, 3-dekanola za svaki identificirani spoj u netretiranim i tretiranim uzorcima.

**Tablica 14.** Površina ispod pika za svaki identificirani spoj u netretiranom i tretiranim uzorcima

Ime spoja	Površina ispod pika (%)							
	N	PAS	P(+)	P(-)	PM(+)	PM(-)	TM(+)	TM(-)
1-heksanol	0,9527	0,3701	0,9649	-	0,9179	0,4942	0,1697	0,7973
1-heksil acetat	0,7627	0,4598	0,8987	0,5861	0,4569	0,5545	0,5081	0,5012
propil izocianid	1,4344	0,7909	1,5556	1,2532	1,1734	1,4429	1,0914	1,2186
n-heksil butirat	0,3690	0,2261	0,5657	0,3186	0,1999	0,2236	0,1360	0,1528
1-(2,6,6-trimetil-1,3-cikloheksadien)-2-buten-1-on	1,1091	0,8107	0,5380	0,3781	0,7241	1,1343	0,8939	1,0441
2,6-bis(1,1-dimetil)-2,5-cikloheksadien-1,4-dion	0,4340	0,7502	0,4225	1,9809	1,7194	0,3695	0,5013	0,3239
2,6-di(t-butil)-4-hidroksi-4-metil-2,4-cikloheksad	1,1847	1,9329	-	1,4778	1,4701	1,6603	2,6529	1,8848
2-metil-5-(4'-metilfenil)sulfonil-4-nitroimidazol	0,2541	0,8155	0,2014	0,7556	0,7024	1,0981	0,7146	0,6586
2,4-bis-(1,1-dimetil) fenol	0,2245	1,6422	-	-	-	0,0627	0,1842	0,0537
dodekanska kiselina	0,1789	0,3840	-	0,2492	0,2548	0,1467	0,4549	0,6895
2-metil-, 1- (1,1-dimetiletil) -2-metil-1,3-propandiil ester propanske kiseline	0,1249	0,5762	-	0,1628	0,3833	0,3802	0,8512	0,9322
2,2-dietil-3-okso-, etil ester maslačne kiseline	0,2598	0,4982	-	0,6151	0,4289	0,1323	0,8022	0,5684
bis(2-metilpropil)-1,2-benzen dikarboksilna kiselina	3,0181	6,2422	1,3985	2,1877	3,1038	3,0825	5,8921	5,6191
3,4-dimetil-2,5-difenil-1,3,2-oksazaboralidin	1,0976	1,0481	-	0,9237	1,7444	0,4819	1,4492	0,9323
1,2-benzendikarboksilne kiseline, butil-2-metilpropil ester	3,5948	4,9043	2,5246	3,4694	3,3001	3,0376	4,4218	4,4662



#### **4.5. Metali**

U tablici 15 prikazani su rezultati analize prisutnosti metala za pojedine uzorke tretiranog i netretiranog soka od koncentriranog soka od jabuke dobiveni plamenom i grafitnom tehnikom atomske apsorpcijske spektrometrije.

**Tablica 15.** Rezultati analize prisutnosti metala u uzorcima tretiranog i netretiranog soka od koncentriranog soka od jabuke dobiveni plamenom i grafitnom tehnikom atomske apsorpcijske spektrometrije

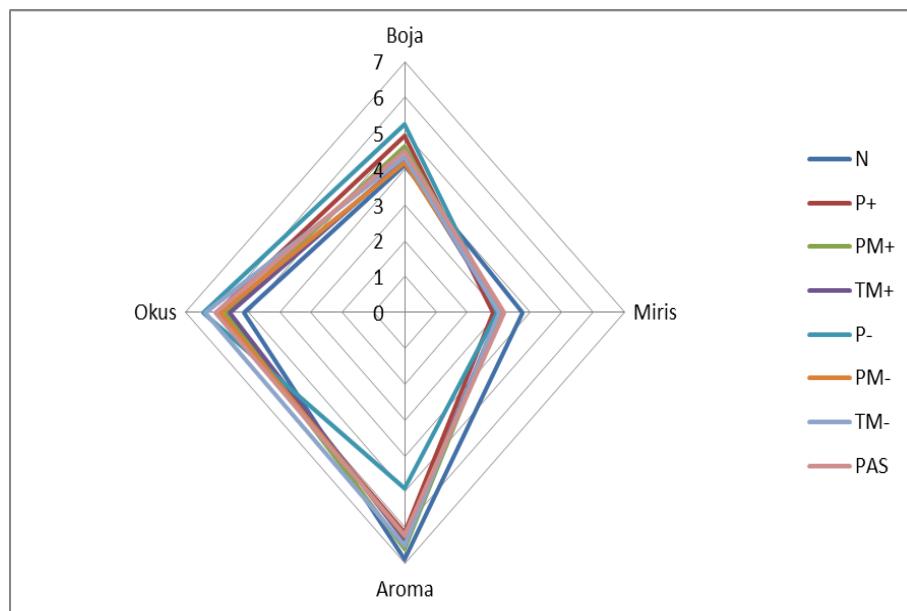
Uzorak	Fe (mg/L)	Zn (mg/L)	Mn (mg/L)
<b>N</b>	1.995	1.612	0.468
<b>PAS</b>	1.099	0.247	0.383
<b>P(-)</b>	3.358	2.085	0.325
<b>TM(-)</b>	1.053	1.238	0.343
<b>PM(-)</b>	0.848	1.131	0.334
<b>P(+)</b>	2.600	0.761	0.369
<b>TM(+)</b>	0.878	0.331	0.333
<b>PM(+)</b>	0.954	0.218	0.333

#### **4.6. Senzorska analiza**

Senzorsko ocjenjivanje provedeno je u pasteriziranom soku i sokovima tretiranim hladnom plazmom. Tijekom senzorskog ocjenjivanja netretirani sok je predstavljao kontrolni uzorak. Pomoću srednje vrijednosti pojedinog svojstva za svaki uzorak i faktora značajnosti za svako svojstvo izračunati je kvalitetni broj svakog uzorka ( tablica 16). Faktor značajnosti za boju iznosi 0.6, miris 0.8, okus 2.0 te za aromu 1.5. Rezultati senzorskog ocjenjivanja prikazani su u obliku paukove mreže. Na slici 10 prikazani su rezultati svih tretiranih uzoraka u odnosu na kontrolni, odnosno netretirani uzorak.

**Tablica 16.** Kvalitetni broj svakog uzorka

Uzorak	Boja	Miris	Aroma	Okus
<b>N</b>	4,11	3,76	6,90	5,13
<b>P+</b>	4,92	2,80	6,15	6,00
<b>PM+</b>	4,62	3,04	6,60	5,73
<b>TM+</b>	4,23	3,01	6,35	5,60
<b>P-</b>	5,25	2,93	4,89	6,43
<b>PM-</b>	4,17	3,12	6,25	5,90
<b>TM-</b>	4,35	3,01	6,50	6,37
<b>PAS</b>	4,50	3,17	6,00	6,03



**Slika 10.** Rezultati svih tretiranih uzoraka u odnosu na kontrolni, netretirani uzorak

## **5. RASPRAVA**

### **5.1. Utjecaj hladne plazme na pH, konduktivnost i temperaturu soka od koncentriranog soka od jabuke**

Utjecaj hladne plazme na fizikalna svojstva soka od jabuke ispitana je mjerjenjem pH i vodljivosti prije i nakon tretmana hladnom plazmom. S obzirom da hladna plazma ulazi u kategoriju netermalnih metoda procesiranja hrane praćena je promjena temperature tijekom obrade soka jabuke hladnom plazmom. Iz rezultata prikazanih u tablici 9 vidljive su neznatne promjene tijekom tretmana hladnom plazmom. Najveća promjena pH od 0,07 pH jedinica dogodila se tijekom tretmana plinskom plazmom s mjehurićima i negativnim polaritetom, dok tijekom tretmana tekućinskom plazmom s mjehurićima i negativnim polaritetom nije došlo do nikakve promjene pH. Najveće promjene konduktivnosti javile su se tijekom tretmana tekućinskom plazmom s mjehurićima i negativnim polaritetom pri čemu je došlo do smanjenja konduktivnosti za  $50 \mu\text{S}/\text{cm}$  i tijekom tretmana plinskom plazmom s mjehurićima i pozitivnim polaritetom pri čemu je došlo do povećanja konduktivnosti za  $54 \mu\text{S}/\text{cm}$ . Najmanja promjena konduktivnosti,  $8 \mu\text{S}/\text{cm}$  dogodila se tijekom tretmana plinskom plazmom s negativnim polaritetom. Prilikom praćenja promjena temperature tijekom tretmana soka hladnom plazmom potrebno je imati na umu vrijeme trajanja tretmana koje je u ovom istraživanju bilo 20 min. Obzirom na vrijeme trajanja tretmana promjene temperature nisu bile značajne. Najveća promjena temperature zabilježena je za tretman plinskom plazmom s pozitivnim polaritetom pri čemu je došlo do porasta temperature od  $10,9^\circ\text{C}$ , a najmanja promjena temperature od samo  $5^\circ\text{C}$  zabilježena je za tretman plinskom plazmom s mjehurićima i negativnim polaritetom. Tretman hladnom plazmom ne utječe značajno na navedene fizikalno-kemijska svojstva soka. Dobiveni rezultati potvrđuju rezultate dobivene tretiranjem soka od rajčice, naranče i jabuke hladnom plazmom pri čemu također nije došlo do značajnih promjena fizikalno-kemijskih svojstava soka (Yeom i sur., 2000; Min i sur., 2003).

### **5.2. Utjecaj hladne plazme na boju soka od koncentriranog soka od jabuke**

Utjecaj tretmana hladnom plazmom na boju soka od koncentriranog soka od jabuke određivan je mjerjenjem boje netretiranog soka i tretiranih sokova te usporedbom rezultata. Boja netretiranog uzorka i tretiranih uzoraka određivana je CIELAB metodom. Ova metoda, ustanovljena od strane Commission Internationale de L'Eclairage, najčešće se koristi za

instrumentalno određivanje boje (Lancaster i sur., 1997), prema kojoj se boja mjeri u trodimenzionalnom sustavu ( $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ ). Značenje pojedinih parametara opisano je pod 3.2.6. Rezultati analize prikazani su u tablici 10 i na slikama 6 i 7. Iz rezultata je vidljivo da tretman hladnom plazmom ne utječe značajno na parametre boje soka od koncentriranog soka od jabuke. Najveće promjene parametara boje zabilježene su usporedbom rezultata analize netretiranog soka i soka nakon tretmana plinskom plazmom s pozitivnim polaritetom i soka nakon tretmana plinskom plazmom s negativnim polaritetom. Promjena parametara boje soka tretiranog plinskom plazmom s pozitivnim i negativnim polaritetom najizraženija je analizom parametara  $L^*$  i  $b^*$ , odnosno sok tretiran plinskom plazmom s pozitivnim i negativnim polaritetom je tamniji i ima izraženiji žuti dio spektra u odnosu na netretirani sok. Sánchez-Moreno i sur. (2005) su u svom istraživanju usporedili utjecaj visokog tlaka, plazme i pasterizacije na boju soka od naranče. Rezultati njihovog istraživanja pokazali su da pojedini tretmani ne utječu značajno na svjetlinu soka, odnosno na parametar  $L^*$ , dok se parametar  $b^*$  u njihovom slučaju smanjio nakon tretmana visokim tlakom i plazmom, što ukazuje na smanjenje izraženosti žute boje.

### **5.3. Utjecaj hladne plazme na antioksidacijski kapacitet soka od koncentriranog soka od jabuke**

Nekoliko je metoda koje se koriste za određivanje antioksidacijskog profila hrane i rezultati mogu značajno varirati ovisno o eksperimentu. U ovom radu antioksidacijski kapacitet određivan je dvjema metodama, DPPH i ABTS metodom. DPPH metoda se navodi kao jednostavna i precizna za određivanje antioksidacijskog profila uzorka sokova (Gil i sur., 2000). Uz to DPPH metoda nije specifična za određeni antioksidant, pa se stoga primjenjuje za određivanje cjelokupnog antioksidacijskog kapaciteta uzorka. Obzirom da plazma nastaje ionizacijom pri čemu nizom reakcija nastaju slobodni radikali za očekivati je smanjenje antioksidacijskog kapaciteta jer antioksidanti neutraliziraju slobodne radikale donirajući im svoj elektron. Rezultati ovog istraživanja prikazani su u tablicama 11 i 12. Zbog jednostavnijeg pregleda i usporedbe rezultati su prikazani i grafički na slikama 8 i 9.

Iz rezultata u tablicama 11 i 12 te grafičkih prikaza vidljivo je da se antioksidacijski kapacitet soka od koncentriranog soka od jabuke različito mijenja ovisno o vrsti tretmana. Međutim, tretman hladnom plazmom ne utječe drastično na antioksidacijski kapacitet soka od koncentriranog soka od jabuke što je u skladu sa zaključkom istraživanja Odriozola-Serrano i sur. (2008) da hladna plazma ne utječe na sadržaj fenola i antioksidacijski kapacitet soka od

rajčice. Elez-Martínez i Martín-Belloso (2007) proveli su istraživanje o utjecaju hladne plazme na sadržaj vitamin C i antioksidacijski kapacitet soka od naranče i *gazpacho*-a, hladne juhe od povrća. Zaključak njihova istraživanja je također da procesiranje sokova hladnom plazmom ne utječe na antioksidacijski kapacitet, te je sadržaj vitamin C bolje očuvan u sokovima tretiranim hladnom plazmom nego u toplinski obradenim sokovima.

#### **5.4. Utjecaj hladne plazme na aromatski profil soka od koncentriranog soka od jabuke**

Aromatski profil je kompleksno svojstvo soka. Spojevi arome su osjetljivi spojevi podložni raznim vanjskim i unutarnjim faktorima poput kisika, svijetla, topline i dr.. Spojevi identificirani u uzorcima odgovaraju aromatskom profilu soka od jabuke (Young i sur., 1996; Abrodo i sur., 2010). Rezultati utjecaja hladne plazme na aromatski profil soka od koncentriranog soka od jabuke nalaze se u tablicama 13 i 14. Iz rezultata je vidljivo da i pasterizacija, kao konvencionalni način konzerviranja sokova, ima utjecaj na aromatski profil soka. Do određene promjene aromatskog profila došlo je u svim tretiranim uzorcima. Najveće promjene zabilježene su u uzorku tretiranom plinskom plazmom s pozitivnim polaritetom, 6 spojeva nije identificirano ( 2,6-di(t-butil)-4-hidroksi-4-metil-2,4-cikloheksad; 2,4-bis-(1,1-dimetil) fenol; dodekanska kiselina; 2-metil-, 1- (1,1-dimetiletil) -2-metil-1,3-propandiil ester propanske kiseline; 2,2-dietil-3-okso-, etil ester maslačne kiseline; 3,4-dimetil-2,5-difenil-1,3,2-oksazaboralidin). Nešto manje, ali također značajne promjene zabilježene su u uzorku tretiranom plinskom plazmom s negativnim polaritetom, u kojem 2 spoja nisu identificirana (1-heksanol; 2,4-bis-(1,1-dimetil) fenol) i u uzorku tretiranom plinskom plazmom s mjeđurićima i pozitivnim polaritetom, u kojem nije identificiran 1 spoj (2,4-bis-(1,1-dimetil) fenol). Najmanji utjecaj na aromatski profil soka od koncentriranog soka od jabuke je imao tretman plinskom plazmom s mjeđurićima i negativnim polaritetom. Tretman plinskom plazmom s mjeđurićima i negativnim polaritetom ima manji utjecaj na aromatski profil soka i od tretmana pasterizacijom. Prilikom pregleda rezultata utjecaja tretmana hladnom plazmom na aromatski profil soka potrebno je imati na umu osjetljivost spojeva arome koji su podložni pomjenama neovisno o kojem se procesu obrade radi.

## **5.5. Utjecaj hladne plazme na prisutnost metala u uzorcima soka od koncentriranog soka od jabuke**

Tijekom tretmana hladnom plazmom elektroda uzemljenja je u izravnom kontaktu s uzorkom soka tijekom cijelog tretmana, a visokonaponska elektroda varira ovisno o tretmanu. U međuprostoru između elektrode i soka, kako bi se očuvao naboј, dolazi do raznih elektrokemijskih reakcija pri čemu može doći do otpuštanja metala u sok uslijed korozije elektrode (Roodenburg i sur., 2005). Iz rezultata ovog rada može se zaključiti da tijekom izloženosti elektroda soku od jabuke u trajanju od 20 min nije došlo do erozije. Pravilnik o toksinima, metalima, metaloidima te drugim štetnim tvarima koje se mogu nalaziti u hrani (NN 16/2005) regulirana je najviša dopuštena količina željeza i cinka u soku od voća i povrća, koncentriranom soku, voćnom sirupu izražena kao mg metala po kg ili L soka. Najviša dopuštena količina željeza je 15 mg/L, a cinka 5 mg/L. U ovom radu prisutnost metala određivana je metodom atomske apsorpcijske spektrometrije. Za određivanje željeza i cinka korištena je metoda plamene atomske apsorpcijske spektrometrije (HRN ISO 8288:1998), a za određivanje mangana je korištena metoda grafitne atomske apsorpcijske spektrometrije (HRN ISO 15586:2008). Rezultati analize navedeni su u tablici 15. Iz rezultata se vidi da je količina željeza i cinka u uzorcima tretiranih sokova znatno niža od najviših dopuštenih količina. Rezultati analize tretiranih sokova uspoređeni su s rezultatima analize netretiranog soka. Količina željeza u tretiranim uzorcima sokova je viša od količine željeza u netretiranom uzorku soka jedino u uzorcima tretiranim plinskom plazmom (iako je i ta količina znatno niža od pravilnikom dopuštene, 3,4 mg/L i 2,6 mg/L), dok je u ostalim tretiranim uzorcima količina željeza manja nego u netretiranom uzorku, ali i u pasteriziranom uzorku. Koncentracija cinka u netretiranom i tretiranim uzorcima je također znatno niža od pravilnikom najviše dopuštene koncentracije. Uzorak soka tretiran plinskom plazmom s negativnim polaritetom sadrži nešto višu koncentraciju cinka od netretiranog uzorka (2,085 mg/L), a svi ostali uzorci sadrže niže koncentracije cinka od netretiranog uzorka. Koncentracija mangana u netretiranom i tretiranim uzorcima ne razlikuje se značajno, niža je u tretiranim uzorcima.

## **5.6. Utjecaj hladne plazme na senzorska svojstva soka od koncentriranog soka od jabuke**

Netretirani i tretirani sokovi od koncentriranog soka od jabuke senzorski su ocijenjeni metodom kvantitativne deskriptivne analize, a rezultati senzorske analize su prikazani grafički „paukovom mrežom“ (slika 10). Uzorke sokova ocjenjivao je panel od 10 treniranih ocjenjivača, a ocjenjivano je 14 pojedinačnih senzorskih svojstava (boja (intenzitet, bistroća), miris (strani primiris (po kuhanom, oksidirani), miris po jabuci, miris-ukupni dojam), aroma (karakteristična, neugodna (na metalno), ukupni dojam), okus (kiseo, sladak, „metalan“, „po kemikalijama“, neugodan naknadni, ukupni dojam). Uzorci su ocjenjivani skalom od 0 do 10, gdje je 0 predstavljala ocjenu za najslabije izraženo svojstvo, a 10 ocjenu za najviše izraženo svojstvo. Rezultati su tretiranih uzoraka sokova prikazani su u odnosu na rezultate netretiranog uzorka te je iz grafičkog prikaza vidljivo da nema signifikatnih odstupanja. Boja svih tretiranih uzoraka ocijenjena je višom ocjenom od netretiranog uzorka ( $>6,85$ ), odnosno tretirani uzorci su tamnije boje od netretiranog. Uzorak tretiran plinskom plazmom s mjeđurićima i negativnim polaritetom najsličnije je boje netretiranom uzorku (6,95). Ocjena mirisa netretiranog uzorka je 4,7. Miris svih tretiranih uzoraka ocijenjen je nižom ocjenom. Pasterizirani uzorak i uzorak tretiran tekućinskom plazmom s mjeđurićima i negativnim polaritetom imaju ocjenu mirisa najbližu ocjeni netretiranog uzorka (3,77 i 3,97). Niža ocjena mirisa tretiranih uzoraka ukazuje na smanjen intezitet mirisa soka. Aroma netretiranog soka ocijenjena je s ocjenom 4,6. Najsličniji aromatski profil netretiranom soku ima uzorak tretiran plinskom plazmom s mjeđurićima i pozitivnim polaritetom (4,4). Sok tretiran plinskom plazmom s negativnim polaritetom ocijenjen je značajno nižom ocjenom za aromu od netretiranog uzorka (3,27). Okus tretiranih uzoraka ocijenjen je višim ocjenama od netretiranog uzorka što ukazuje na povećanje intenziteta okusa uslijed tretmana hladnom plazmom. Iz grafičkog prikaza na slici 10 može se primjetiti da tretman hladnom plazmom ne utječe značajno na senzorska svojstva soka od koncentriranog soka od jabuke.

## **6. ZAKLJUČAK**

Tretman hladnom plazmom ranije je dokazan kao uspješan postupak konzerviranja hrane, a ovim radom je istražen njegov utjecaj na antioksidacijski kapacitet, aromatski profil, fizikalno-kemijska i senzorska svojstva soka od jabuke. Iz rezultata ovog rada može se zaključiti sljedeće:

- Tretman hladnom plazmom ne utječe značajno na fizikalno-kemijska svojstva soka od koncentriranog soka od jabuke, odnosno tijekom tretmana ne dolazi do značajne promjene pH, konduktivnosti i temperature.
- Tretman hladnom plazmom ne utječe značajno na boju i antioksidacijski kapacitet soka od koncentriranog soka od jabuke.
- Također, može se zaključiti da tretman hladnom plazmom nema negativan utjecaj na aromatski profil soka od koncentriranog soka od jabuke. Tretman plinskom plazmom s mjeđurićima i negativnim polaritetom manje utječe na aromatski profil soka od tretmana pasterizacije.
- Koncentracije metala (Fe, Zn, Mn) u sokovima tretiranim hladnom plazmom značajno su niže od zakonom propisane maksimalno dozvoljene koncentracije navedenih metala te se može zaključiti da ne postoji opasnost od prisutnosti metala u soku tretiranom hladnom plazmom.
- Tretman hladnom plazmom ne utječe značajno na senzorska svojstva soka od koncentriranog soka od jabuke. Svi tretirani uzorci su prihvatljivi za konzumaciju.
- Usporedbom rezultata uzorka tretiranih plinskom plazmom, plinskom plazmom s mjeđurićima i tekućinskom plazmom s mjeđurićima može se zaključiti da je plinska plazma najmanje pogodna za tretiranje soka od koncentriranog soka od jabuke obzirom da najznačajnije utječe na fizikalno-kemijska svojstva, antioksidacijski kapacitet, aromatski profil i senzorska svojstva soka.

## 7. LITERATURA

- Abrodo, P.A., Llorente, D.D., Corujedo, S.J., Fuente, E.D., Álvarez, M.D.G., Gomis, D.B. (2010) Characterisation of Asturian cider apples on the basis of their aromatic profile by high-speed gas chromatography and solid-phase microextraction. *Food Chemistry* **121** (4), 1312-1318.)
- Bogaerts, A., Neyts, E., Gijbels, R., Mullen, van der, J. (2006) Gas discharge plasmas and their applications. *Spectrochim. acta B* **57**, 609 – 658.
- Boulos, M.I., Fauchais, P., Pfender, E. (1994) The plasma states. U: Thermal Plasmas-Fundamentals and Applications, Springer Science + Business Media, LLC, New York, str. 1-47.
- Braca, A., De Tommasi, N., Di Bari, L., Pizza, C., Politi, M., Morelli, I. (2001) Antioxidant principles from Bauhinia tarapotensis. *Journal of Natural Products* **64**, 892-895.
- Braga, C.M., Zielinski, A.A.F., Silva, K.M., Souza, F.K.F., Pietrowski, G.A.M., Couto, M., Granato , D., Wosiacki, G., Nogueira, A. (2013) Classification of juices and fermented beverages made from unripe, ripe and senescent apples based on the aromatic profile using chemometrics. *Food Chemistry* **141**, 967–974.
- Braithwaite, N. St. J. (2000) Introduction to gas discharges. *Plasma Sources Sci. Technol.* **9**, 517–527.
- Campeanu, G., Neata, G., Darjanschi, G. (2009) Chemical Composition of the Fruits of Several Apple Cultivars Growth as Biological Crop. *Not. Bot. Hort. Agrobot. Cluj* **37** (2), 161-164.
- Cos, P., Ying, L., Calomme, M., Hu, J. P., Cimanga, K., Van Poel, B., Pieters, L., Vlietinck, A. J., Vander-Berghe, D. (1998) Structure-activity relationship and classification of flavonoids as inhibitors of xanthine oxidase and superoxide scavengers. *J. Nat. Prod.* **61**, 71-76.
- Cui, N. , Brown, N. (2002) Modification of the surface properties of polypropylene (PP) film using an air dielectric barrier discharge plasma, *Applied Surface Science* **189**, 31- 38.
- Čunko, R., Ercegović Ražić, S. (2010/2011) Use of plasma Technology for modification of textiles, *Annual 2010/2011 of the Croatian Academy of Engineering*, 199-212.

- Elez-Martínez, P., Martín-Belloso, O. (2007) Effects of high intensity pulsed electric field processing conditions on vitamin C and antioxidant capacity of orange juice and gazpacho,a cold vegetable soup. *Food Chemistry* **102**, 201–209.
- Elliott, A. J., Scheiber, S. A., Thomas, C., Pardini, R. S. (1992) Inhibition of glutathione reductase by flavonoids. *Biochem Pharmacol.* **44**, 1603-1608.
- Ercegović Ražić, S., Čunko, R. (2009) Modifikacija svojstava tekstilija primjenom plazme. 3 *Tekstil* **58 (3)**, 55-74.
- Ferrali, M., Signorini, C., Caciotti, B., Sugherini, L., Ciccoli, L., Giachetti, D., Comporti, M. (1997) Protection against oxidative damage of erythrocyte membranes by the flavonoid quercetin and its relation to iron chelating activity. *FEBS Lett.* **416**, 123- 129.
- Fridman, A. (2008) Plasma Chemistry, Cambridge University Press, New York. < [https://books.google.hr/books?hl=hr&lr=&id=ZzmtGEHCC9MC&oi=fnd&pg=PR39&dq=Plasma+Chemistry+fridman&ots=YhgCx9rYdj&sig=9ELccZqeEWkXuGbzPnCkgimSdY&redir\\_esc=y#v=onepage&q=Plasma%20Chemistry%20fridman&f=false](https://books.google.hr/books?hl=hr&lr=&id=ZzmtGEHCC9MC&oi=fnd&pg=PR39&dq=Plasma+Chemistry+fridman&ots=YhgCx9rYdj&sig=9ELccZqeEWkXuGbzPnCkgimSdY&redir_esc=y#v=onepage&q=Plasma%20Chemistry%20fridman&f=false)>. Pristupljeno 16. siječnja 2016.
- Gachovska, T.K., Kumar, S., Thippareddi, H., Subbiah, J., Williams, F. (2008) Ultraviolet and Pulsed Electric Field Treatments Have Additive Effect on Inactivation of E. coli in Apple Juice. *Journal of Food Science* **73** (9), 412-417.
- Gil, M. I., Tomás-Barberán, F. A., Hess-Pierce, B., Holcroft, M., Kader, A. (2000) Antioxidant activity of pomegranate juice and its relationship with phenolic composition and processing. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **48**, 4581–4589.
- Guyot, S., Marnet, N., Laraba, D., Sanoner, P., Drilleau, J.F. (1998) Reversed-Phase HPLC following Thiolysis for Quantitative Estimation and Characterization of the Four Main Classes of Phenolic Compounds in Different Tissue Zones of a French Cider Apple Variety (*Malus domestica* Var. Kermerrien). *J. Agric. Food Chem.* **46**, 1698–1705.
- Hamerli, P. (2004) Plasma aminofunctionalisation of polymeric membrane surfaces for tissue engineering applications, Dissertation, Univesity of Veszprem.
- Harborne J. B., Baxter, H. (1999) The Handbook of Natural Flavonoid, (John Wiley, ured.), Wiley& Sons, Chichester.

- Herceg, Z. (2009) Procesi konzerviranja hrane – Novi postupci, Golden marketing-Tehnička knjiga, Zagreb.
- Kaur, C., Kapoor, H. C. (2001) Antioxidants in fruits and vegetables-the millennium's health. *Int. J. Food. Sci. Technol.* **36**, 703-725.
- Kogelschatz, U. (2003) Dielectric-Barrier Discharges: Their History, Discharge Physics, and Industrial Applications. *Plasma Chemistry and Plasma Processing* **23** (1), 1-46.
- Krstulović, N., Labazan, I., Milošević, S. (2006) Study of Mn laser ablation in methane atmosphere. *Eur. Phys. D* **37**, 209-215.
- Kutlu, B., Cireli, A. Plasma technology in textile processing, Dokuz Eylül University, Textile Engineering Department, 35100, Bornova-IZMIR.
- Kyselova, Z. (2011) Toxicological aspects of the use of phenolic compounds in disease prevention. *Interdiscip. Toxicol.* **4** (4), 173-183.
- Labazan, I., Krstulović, N., Milošević, S. (2006) Laser vaporization of AlLiH<sub>4</sub> sample. *Chemical Physics Letters* **428**, 13–17.
- Lancaster, J. E., Lister, C. E., Reay, P. F., Triggs, C. M. (1997) Influence of pigment composition on skin color in a wide range of fruit and vegetables. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* **122**, 594-598.
- Marušić, N., Petrović, M., Vidaček, S., Petrak, T., Medić, H. (2011) Characterization of traditional Istrian dry-cured ham by means of physical and chemical analyses and volatile compounds. *Meat Sci.* **88**, 786-790.
- McGuire, R.G. (1992). Reporting of objective colour measurements. *Hort. Sci.* **27** (12), 1254-1255.
- Miller, N.J., Rice-Evans, C.A., Davies, M.J., Gopinathan, V., Milner, A. (1993) A novel method for measuring antioxidant capacity and its application to monitoring the antioxidant status in premature neonates. *Clin. Sci.* **84**, 407-412.
- Min, S., Min, S. K., & Zhang, Q. H. (2003) Inactivation kinetics of tomato juice lipoxygenase by pulsed electric fields. *Journal of Food Science* **68**, 1995–2001.
- Mratić, E. (2013) Jabuka, Partenon, Beograd.
- Odriozola-Serrano, I., Soliva-Fortuny, R., Martín-Belloso, O. (2008) Changes of health-related compounds throughout cold storage of tomato juice stabilized by thermal or high intensity pulsed electric field treatments. *Innovative Food Science and*

*Emerging Technologies* **9**, 272–279. Pietta, P. G. (2000) Flavonoids as antioxidants. *J. Nat. Prod.* **63**, 1035-1042.

- Pravilnik o toksinima, metalima, metaloidima te drugim štetnim tvarima koje se mogu nalaziti u hrani (2005) *Narodne novine* **16**, Zagreb (NN 16/2005).
- Pravilnik o voćnim sokovima i njima sličnim proizvodima namijenjenim za konzumaciju (2013) *Narodne novine* **48**, Zagreb (NN 48/2013).
- Prior, R. L., Wu, X. L., Schaich, K. (2005) Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **53**, 4290-4302.
- Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., Rice-Evans, C. (1999) Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radic Biol Med.* **26** (9-10), 1231-1238.
- Sánchez-Moreno, C., Plaza, L., Elez-Martínez, P., Ancos, B., Martín-Belloso, O., Cano, M. P. (2005) Impact of High Pressure and Pulsed Electric Fields on Bioactive Compounds and Antioxidant Activity of Orange Juice in Comparison with Traditional Thermal Processing. *J. Agric. Food Chem.* **53**, 4403–4409.
- Schieber, A., Keller, P., Carle, R. (2001) Determination of phenolic acids and flavonoids of apple and pear by high-performance liquid chromatography. *Journal of Chromatography A* **910**, 265–273.
- Schilling, S., Schmid, S., Jager, H., Ludwig, M., Dietrich, H., Toepfel, S., Knorr, D., Neidhart, S., Schieber, A., Carle, R. (2008) Comparative Study of Pulsed Electric Field and Thermal Processing of Apple Juice with Particular Consideration of Juice Quality and Enzyme Deactivation. *J. Agric. Food Chem.* **56**, 4545–4554.
- Schlüter, O., Ehlbeck, J., Hertel, C., Habermeyer, M., Roth, A., Engel, K.H., Holzhauser, T., Knorr, D., Eisenbrand, G. (2013) Opinion on the use of plasma processes for treatment of foods. *Mol. Nutr. Food Res.* **57**, 920–927.
- Shishoo, R. (2007) Plasma technologies for textiles, Published by Woodhead Publishing Limited in association with Textile Institute, Abington Hall, Abington, Cambridge, England.
- Surowsky, B., Fröhling, A., Gottschalk, N., Schlüter, O., Knorr, D. (2014) Impact of cold plasma on *Citrobacter freundii* in apple juice: Inactivation kinetics and mechanisms. *International Journal of Food Microbiology* **174**, 63–71.

- Yeom, H. W., Streaker, C. B., Zhang, Q. H., & Min, D. B. (2000) Effects of pulsed electric fields on the quality of orange juice and comparison with heat pasteurisation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **48**, 4597–4605.
- Young, H., Gilbert, J.M., Murray, S.H., Ball, R.D. (1996) Causal Effects of Aroma Compounds on Royal Gala Apple Flavours. *J Sci Food Agric* **71**, 329-336.

## **8. SAŽETAK**

Lucija Marković: Utjecaj hladne plazme na senzorska i fizikalno-kemijska svojstva soka od jabuke

Današnji potrošači traže minimalno procesiranu hranu zbog čega novi postupci procesiranja hrane dobivaju na značaju. Novi postupci procesiranja hrane mogu u potpunosti zamijeniti pojedine standardne operacije, a pri tome se dobivaju proizvodi bolje kakvoće, postiže se ušteda energije, skraćuje trajanje tehnološkog procesa. U nove postupke procesiranja hrane ubraja se i hladna atmosferska plazma. Plazma je ionizirani ili djelomično ionizirani plin koji se sastoji od nabijenih čestica (elektrona, iona), radikala, fotona i neutralnih čestica (atoma, molekula), a nastaje ionizacijom. Dokazano je da hladna plazma ima antimikrobno djelovanje što je čini dobrim konzervirajućim procesom. Voćni sokovi i njima srodni proizvodi jedna su od najznačajnijih skupina voćnih prerađevina s prehrambenoga i gospodarskoga gledišta. Cilj ovog rada je odrediti utjecaj tretmana hladnom plazmom na antioksidacijski kapacitet, aromatski profil, fizikalno-kemijska i senzorska svojstva soka od koncentriranog soka od jabuke. Uzorci su tretirani plinskom plazmom (pozitivan i negativan polaritet), plinskom plazmom s mjeđurićima (pozitivan i negativan polaritet) i tekućinskom plazmom s mjeđurićima (pozitivan i negativan polaritet). Uzorcima su izmjereni pH, konduktivnost i temperatura prije i poslije tretmana. Boja netretiranog i tretiranih uzoraka određivana je CIELAB metodom. Antioksidacijski kapacitet je određivan ABTS i DPPH metodama, a aromatski profil plinskom kromatografijom s masenom spektrometrijom (GC-MS). Senzorska svojstva soka određena su kvantitativnom dekriptivnom analizom (QDA). Rezultati analize tretiranih uzoraka uspoređivani su s rezultatima netretiranom i pasteriziranog uzorka soka od koncentriranog soka od jabuke. Usporedbom rezultata uzoraka tretiranih hladnom plazmom s netretiranim uzorkom zaključilo se da tretman hladnom plazmom ne utječe značajno na antioksidacijski kapacitet, aromatski profil, fizikalno-kemijska i senzorska svojstva soka od koncentriranog soka od jabuke.

Ključne riječi: *hladna plazma, antioksidacijski kapacitet, aromatski profil, fizikalno kemijska svojstva, senzorska svojstva, sok od jabuke*

## 9. SUMMARY

Lucija Marković: The impact of non-thermal plasma on sensory and physico-chemical properties of apple juice

Nowadays consumers are demanding minimally processed foods and that's the main reason why new food processing methods are gaining importance. New food processing methods can completely replace certain standard operations, and thereby obtain higher quality products, saving energy, shortens the duration of the technological process. One of the new food processing methods is non-thermal plasma treatment. Plasma is ionized or partially ionized gas that consists of charged particles (electrons, ions), radicals, photons and neutral particles (atoms, molecules), and is formed by ionization. It has been shown that non-thermal plasma has an antimicrobial effect which makes it good conservative process. Fruit juices and related products are one of the most important groups of fruit products. The aim of this work is to determine the impact of non-thermal plasma on antioxidant capacity, aromatic profile, physico-chemical and sensory characteristics of the juice from concentrated apple juice. The samples were treated with gas plasma (positive and negative polarity), gas plasma with bubbles (positive and negative polarity) and liquid plasma with bubbles (positive and negative polarity). Physical parameters like: pH value, conductivity and temperature of samples were measured before and after treatment. The color of untreated and treated samples was determined by CIELAB method. Antioxidant capacity was determined by DPPH and ABTS methods. Aroma analysis was carried out by headspace-solid phase microextraction (HS-SPME) and gas chromatography mass spectrometry (GC-MS) and for the sensory evaluation quantitative descriptive analysis (QDA) was applied. Results of the analysis of the treated samples were compared with the results of the untreated sample and pasteurized sample. By comparing the results of samples treated with non-thermal plasma to untreated sample concluded that the non-thermal plasma treatment does not significantly affect the antioxidant capacity, aromatic profile, physico-chemical and sensory properties of the juice from concentrated apple juice.

Key words: *non-thermal plasma, antioxidant capacity, aromatic profile, physico-chemical properties, sensory properties, apple juice*

## **10. ŽIVOTOPIS**

### **Lucija Marković**

Rodena sam 18.08.1992. u Zagrebu, gdje sam pohađala i završila Osnovnu školu grofa Janka Draškovića. Školovanje sam nastavila u prirodoslovno-matematičkoj gimnaziji Lucijan Vranjanin u Zagrebu, opći smjer.

2011. godine upisujem Prehrambeno-biotehnološki fakultet u Zagrebu, smjer Prehrambena tehnologija, nakon kojeg sam stekla zvanje sveučilišne prvostupnice inženjerke prehrambene tehnologije sa osvojenom 183 ECTS boda i težinskim prosjekom ocjena 3,738.

2014. godine upisujem diplomski studij na istom fakultetu, smjer Upravljanje sigurnošću hrane. Trenutno sam studentica druge godine diplomskog studija.

Tijekom ljeta 2015. godine odradila sam stručnu praksu u tvornici jestivih ulja Aceites Borges Pont, SAU, Španjolska.

Dobitnica sam stipendije Biotehničke zaklade Prehrambeno-biotehnološkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu za akademsku godinu 2014./2015. i 2015./2016.