

# Utjecaj visokonaponskog električnog pražnjenja na fizikalno-kemijska svojstva i mikrobiološku kvalitetu kašastog soka šipka (*Rosa canina laxa*)

---

Polović, Martina

Master's thesis / Diplomski rad

2021

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **Josip Juraj Strossmayer University of Osijek, FACULTY OF FOOD TECHNOLOGY / Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Prehrambeno-tehnološki fakultet Osijek**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:109:669584>

Rights / Prava: [Attribution-ShareAlike 4.0 International / Imenovanje-Dijeli pod istim uvjetima 4.0 međunarodna](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2025-03-05**

REPOZITORIJ

PTFS

PREHRAMBENO-TEHNOLOŠKI FAKULTET OSIJEK

dabar  
DIGITALNI AKADEMSKI ARHIVI I REPOZITORIJI

Repository / Repozitorij:

[Repository of the Faculty of Food Technology Osijek](#)



**SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU**  
**PREHRAMBENO – TEHNOLOŠKI FAKULTET OSIJEK**

**Martina Polović**

**UTJECAJ VISOKONAPONSKOG ELEKTRIČNOG  
PRAŽNENJA NA FIZIKALNO-KEMIJSKA SVOJSTVA I  
MIKROBIOLOŠKU KVALITETU KAŠASTOG SOKA ŠIPKA**  
*(Rosa canina laxa)*

**DIPLOMSKI RAD**

Osijek, rujan 2021.

## TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

DIPLOMSKI RAD

Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku  
Prehrambeno-tehnološki fakultet Osijek  
Zavod za prehrambene tehnologije  
Katedra za tehnologiju voća i povrća  
Franje Kuhača 18, 31000 Osijek, Hrvatska

Diplomski sveučilišni studij prehrambenog inženjerstva

Znanstveno područje: Biotehničke znanosti

Znanstveno polje: Prehrambeno inženjerstvo

Nastavni predmet: Minimalno procesirana hrana

Tema rada je prihvaćena na VIII redovitoj sjednici Fakultetskog vijeća Prehrambeno-tehnološkog fakulteta Osijek u akademskoj godini 2020./2021. održanoj 27. svibnja 2021.

Mentor: prof. dr. sc. Nela Nedić Tiban

**Utjecaj visokonaponskog električnog pražnjenja na fizikalno-kemijska svojstva i mikrobiološku kvalitetu kašastog soka šipka (*Rosa canina laxa*)**

Martina Polović, 0113142171

**Sažetak:** Visokonaponsko električno pražnjenje je netermička tehnika koja se pokazala učinkovitom u inaktivaciji brojnih mikroorganizama i enzima, uz minimalne učinke na nutritivni sastav i senzorska svojstva hrane. U radu je istražen utjecaj procesnih parametara, frekvencije pražnjenja (50 i 100 Hz) i vremena obrade (10, 15 i 20 minuta) na fizikalno-kemijska svojstva i mikrobiološku stabilnost kašastog soka šipka (*Rosa canina laxa*). Rezultati obrada su uspoređeni sa neobrađenim i pasteriziranim sokom. Obrada plazmom nije značajnije utjecala na pad pH vrijednosti i porast električne vodljivosti sokova, kao niti na degradaciju bioaktivnih spojeva. Najveći stupanj degradacije askorbinske kiseline (gubitak od 55%) i fenolnih tvari (50%), kao i najveća ukupna promjena boje (10,47) zabilježena je u pasteriziranom soku. Ispitivanje mikrobiološke kvalitete ne/obrađenih uzoraka soka provedeno je neposredno nakon pripreme/obrade, te tijekom 6 i 12 dana skladištenja pri 4 °C. Broj aerobnih mezofilnih bakterija, bakterija roda *Enterobacteriaceae* i *Escherichia coli* u ispitivanim uzorcima soka bio je sukladan važećim mikrobiološkim kriterijima, a niti u jednom uzorku soka tijekom 12 dana skladištenja nije zabilježena prisutnost bakterija *Salmonella* spp. i *Listeria monocytogenes*. Najbolju mikrobiološku stabilnost (< 10 CFU/mL) u pogledu broja kvasaca i plijesni imali su pasterizirani sok i sok pripravljen od kaše blanširane nakon pasiranja, koji je nakon pripreme obrađen plazmom (100 Hz, 20 minuta).

**Ključne riječi:** visokonaponsko električno pražnjenje, kašasti sok, šipak

**Rad sadrži:** 63 stranice

11 slika

14 tablica

86 literaturnih referenci

**Sastav Povjerenstva za ocjenu i obranu diplomskog rada i diplomskog ispita:**

- |                                     |               |
|-------------------------------------|---------------|
| 1. prof. dr. sc. Hrvoje Pavlović    | predsjednik   |
| 2. prof. dr. sc. Nela Nedić Tiban   | član-mentor   |
| 3. prof. dr. sc. Mirela Kopjar      | član          |
| 4. izv. prof. dr. sc. Anita Pichler | zamjena člana |

**Datum obrane:** 30. rujna 2021.

**Rad je u tiskanom i elektroničkom (pdf formatu) obliku pohranjen u Knjižnici Prehrambeno-tehnološkog fakulteta Osijek, Franje Kuhača 18, Osijek**

## BASIC DOCUMENTATION CARD

GRADUATE THESIS

University Josip Juraj Strossmayer in Osijek  
Faculty of Food Technology Osijek  
Department of Food Technologies  
Subdepartment of Fruits and Vegetables Technology  
Franje Kuhača 18, 31000 Osijek, Croatia

**Graduate program** of Food Engineering

**Scientific area:** Biotechnical sciences

**Scientific field:** Food technology

**Course title:** Minimally processed foods

**Thesis subject** was approved by the Faculty of Food Technology Osijek Council at its session no. VIII held on May 27, 2021.

**Mentor:** Nela Nedić Tiban, PhD, full professor

### **Influence of High Voltage Electrical Discharge on Physico-Chemical Properties and Microbiological Quality of Rose Hip Nectar (*Rosa canina laxa*)**

Martina Polović, 0113142171

**Summary:** High Voltage Electrical Discharge is non-thermal technique, which turned out to be effectively for inactivation of microorganisms and enzymes, with minimal effects on nutritional composition and sensory properties of food. In this paper has been investigated the influence of process parameters, discharge frequencies (50 and 100 Hz) and processing times (10, 15 and 20 minutes) on physico-chemical properties and microbiological stability of rose hip (*Rosa canina laxa*) nectar. All results were compared with untreated and pasteurised nectars. Plasma treatment did not significantly affect on decrease of pH value and increase in electrical conductivity, as well as the degradation of bioactive compounds. Maximum degree of ascorbic acid degradation (loss of 55%) and phenolic compounds (50%), as well as the highest total colour change (10.47) in pasteurised nectar was observed. Microbiological quality testing of non/treated nectar samples immediately after preparation/ treatment and after 6 and 12 days of storage at 4 °C, was carried out. Aerobic mesophilic bacteria, *Enterobacteriaceae* and *Escherichia coli* count in all samples during 12 days were below the permitted levels. *Salmonella spp.* and *Listeria monocytogenes* were not detected in any of the nectar samples. The best microbiological stability in terms of the number of yeasts and moulds (< 10 CFU/mL) had pasteurised nectar and nectar prepared with blanched purée, treated with HVED (100 Hz, 20 minutes).

**Key words:** high voltage electrical discharge, fruit nectar, rose hip

**Thesis contains:** 63 pages  
11 figures  
14 table  
86 references

**Defence committee:**

- |  |              |
|--|--------------|
| 1. Hrvoje Pavlović, PhD, Full prof.    | chair person |
| 2. Nela Nedić Tiban, PhD, Full prof.   | supervisor   |
| 3. Mirela Kopjar, PhD, Full prof.      | member       |
| 4. Anita Pichler, PhD, Associate prof. | stand-in     |

**Defense date:** September 30, 2021

**Printed and electronic (pdf format) version of thesis is deposited in** Library of the Faculty of Food Technology Osijek, Franje Kuhača, 18, Osijek.

*Zahvaljujem se roditeljima na podršci i usmjeravanju tijekom svih godina studiranja, bez kojih ovo ne bi bilo moguće.*

*Zahvaljujem se mužu na podršci tijekom pisanja diplomskog rada.*

*Zahvaljujem se mentorici prof. dr. sc. Neli Nedić Tiban na stručnoj pomoći i savjetima tijekom izrade rada.*

## Sadržaj:

1. UVOD .....	1
2. TEORIJSKI DIO .....	3
2.1. Netermičke tehnike procesiranja hrane .....	5
2.2. Visokonaponsko električno pražnjenje i hladna plazma .....	9
2.2.1. Stvaranje (generiranje) hladne plazme i fizikalno – kemijska svojstva.....	10
2.2.2. Primjena plazme u procesiranju tekućih proizvoda .....	12
2.3. Šipak .....	15
2.3.1. Proizvodi od šipka .....	20
2.3.2. Kašasti sok .....	22
2.4. Utjecaj hladne plazme na kvalitetu voćnih sokova .....	24
2.5. Utjecaj hladne plazme na mikroorganizme .....	26
3. EKSPERIMENTALNI DIO .....	28
3.1. Zadatak rada .....	29
3.2. Materijali .....	29
3.3. Priprema uzoraka .....	30
3.4. Metode .....	31
4. REZULTATI I RASPRAVA .....	41
4.1. Rezultati fizikalno-kemijskih analiza u sokovima šipka.....	42
4.2. Rezultati mikrobiološke analize sokova šipka .....	50
5. ZAKLJUČAK.....	54
6. LITERATURA .....	56

## **1. UVOD**

Kvaliteta i zdravstvena ispravnost oduvijek su ključni čimbenici u prehrambenoj industriji. Kroz povijest, zahvaljujući povećanju potreba za hranom, razvijene su različite termičke metode konzerviranja kojima se postižu željeni učinci u proizvodima. U suvremenoj preradi voća i povrća tendencija je minimizirati degradativne promjene tijekom procesiranja, uz istovremeno zadržavanje nutritivne vrijednosti hrane.

Zadnjih desetljeća zahtjevi potrošača za minimalno procesiranom hranom, što sličnijoj prirodnim sirovinama doveli su do razvoja koncepta „novih“ tehnologija. Najpoznatiji je primjer tehnologija “preprekama“, koja uključuje sinergijsko djelovanje pojedinih čimbenika, kao što je kombinacija termičkih i netermičkih tehnika. Netermičke tehnike podrazumijevaju postizanje inaktivacije mikroorganizama bez izlaganja štetnih učinaka topline, istodobno produljujući rok trajanja proizvoda i zadržavajući njihove fizikalne, nutritivne i senzorske parametre kvalitete.

Mnoga istraživanja usmjerena su na razvoj blažih tehnika procesiranja koje bi mogle zamijeniti tradicionalne procese, a za pojedine već postoji primjena u komercijalne svrhe. Međutim, neke tehnologije su zbog određenih ograničenja, kao na primjer visokih troškova opreme, još uvijek bez komercijalne primjene. Istražen je njihov utjecaj na degradaciju parametara kvalitete, funkcionalnosti i mikrobiološku stabilnost različitih sokova, ali po našim saznanjima, ne postoje istraživanja sa sokom od šipka (*Rosa canina laxa*).

Visokonaponsko električno pražnjenje je netermička tehnika kojom se generira plazma, a zadnjih godina bilježi potencijalnu primjenu u više područja. Metoda se pokazala vrlo učinkovitom u inaktivaciji brojnih mikroorganizama i enzima, uz minimalne učinke na nutritivni sastav i senzorska svojstva hrane.

Cilj ovog rada bio je istražiti utjecaj visokonaponskog električnog pražnjenja na fizikalno-kemijska svojstva i mikrobiološku kvalitetu i stabilnost kašastog soka šipka.

Ispitao se utjecaj procesnih parametara, frekvencije (50 i 100 Hz) i vremena obrade (10, 15 i 20 minuta) na boju soka, električnu vodljivost, pH vrijednost, suhu tvar, zatim sadržaj fenolnih tvari i udio askorbinske kiseline. Ispitivanje mikrobiološke kvalitete ne/obrađenih uzoraka soka provelo se neposredno nakon pripreme/obrade, te tijekom 6. i 12. dana skladištenja pri 4 °C.

Mikrobiološke analize kojima se utvrdila sukladnost uzoraka s važećim mikrobiološkim kriterijima obuhvaća: aerobne mezofilne bakterije, *Enterobacteriaceae*, *Salmonella* spp., *Escherichia coli*, *Listeriamonocytogenes*, te kvasce i plijesni.



## **2. TEORIJSKI DIO**

Današnji potrošači teže minimalno procesiranoj hrani visoke kvalitete, bez obzira da li se radi o proizvodima od voća, povrća, pićima, mesu, ribi, mliječnim ili drugim proizvodima. Potražnja za svježim voćem i povrćem od strane potrošača u stalnom je porastu (Perni i sur., 2008), Potrošači sve više zahtijevaju hranu koja ima osobine slične sirovoj neprerađenoj hrani, a prema tome i u većoj mjeri zadržana svojstva i sastav sirovine, odnosno hranu koja je spremna za neposrednu upotrebu (engl. „ready-to-use“) i za konzumiranje (engl. „ready-to-prepare“) (WEB 1).

Minimalno procesiranje hrane uključuje termičke i netermičke tehnike procesiranja hrane. Pojam minimalno procesiranje može se definirati na više načina, na primjer kao najblaži mogući tretman kojim se postiže svrha procesiranja namirnice. Druga, konkretnija definicija kaže da se minimalnim procesiranjem hrane istovremeno održava kvaliteta hrane i postiže produljene roka trajanja (Bengtsson i Ohlsson, 2002). Tradicionalne termičke metode procesiranja hrane omogućavaju inaktivaciju mikroorganizama, smanjuju rizik kvarenja hrane osiguravajući zdravstveno ispravnu hranu. Negativna činjenica je da zagrijavanje uzrokuje značajne promjene u prehrambenom proizvodu i umanjuje kvalitetu i senzorska svojstva proizvoda (Amidi, 2011).

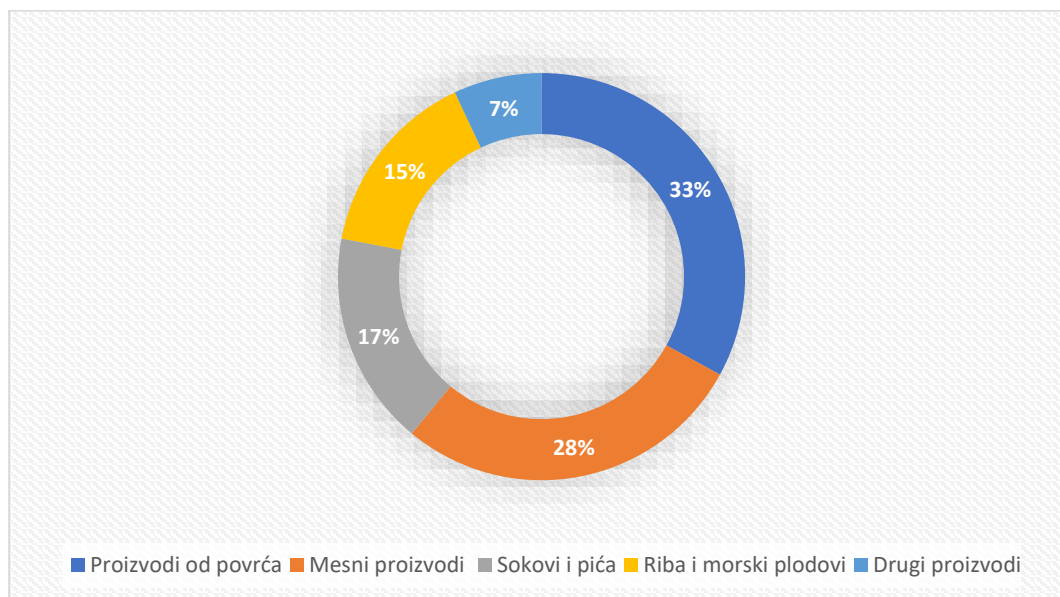
Termičko procesiranje je tradicionalni način konzerviranja voćnih sokova, ali toplina može uzrokovati smanjenje kvalitete soka, u prvom redu okusa, arome, boje, odnosno narušiti i njegovu nutritivnu vrijednost.

Razvoj netermičkih procesa ide u pravcu očuvanja nutritivnih i senzorskih svojstava, a tamo gdje je moguće i teksture proizvoda, uz održanje trajnosti i sigurnosti proizvoda.

## 2.1. Netermičke tehnike procesiranja hrane

Danas se mnoge funkcionalne komponente iz biljnih materijala mogu uspješno ekstrahirati netermičkim tehnikama procesiranja (Umair i sur., 2019). U netermičke tehnike procesiranja hrane ubrajaju se: obrada visokim tlakom, ionizirajuće zračenje, pulsirajuće električno polje, pulsirajuće svjetlo, ultrazvuk, pakiranje u modificiranoj atmosferi, aktivno i inteligentno pakiranje te kao novija metoda hladna plazma. Cilj netermičkih tehnika procesiranja hrane su: očuvanje senzorskih (okus, miris, aroma), nutritivnih svojstava i teksture, produljenje trajnosti i sigurnosti te modifikacija fizikalnih svojstava (WEB 1). Navedene netermičke metode mogu se koristiti zasebno ili se mogu kombinirati, čime se povećava sigurnost i kvaliteta proizvoda uz minimalan gubitak nutrijenata (Umair i sur., 2019).

*Tehnika procesiranja hrane visokim tlakom (HP)* prvi put je predstavljena u Japanu ranih 1990-ih godina. Korištena je kao tehnika za pasterizaciju kiselih namirnica koje se čuvaju u hladnjačama (Bengtsson i Ohlsson, 2002). Danas se HP primjenjuje kako bi se spriječilo mikrobiološko kvarenje hrane te za poboljšanje reoloških i funkcionalnih svojstava namirnica (**Slika 1**; WEB 1). Konzerviranje hrane visokim tlakom preporuča se za namirnice s niskim pH (na primjer jogurt, voćni sokovi, dresinzi za salate), a ne preporuča za namirnice s niskim udjelom vlage (na primjer začini, škrob), ekspanzirane i ekstrudirane proizvode.



**Slika 1** Primjena visokog tlaka u prehrambenoj industriji (WEB 1)

HP tehnika je u industrijskoj primjeni, ali se i dalje unapređuje i istražuje, posebice u obradi voćnih sokova. Obradom visokog tlaka od 500 MPa i skladištenjem pri 4°C i nakon 10 dana očuvana je zdravstvena ispravnost, prisutnost flavanona, te antioksidativna aktivnost svježije cijedenog soka od naranče (Sánchez-Moreno i sur., 2002). Na temelju rezultata istraživanja, García i sur. (2001) zaključili su da je nakon obrade visokim tlakom (pri 500 i 800 MPa) u soku od naranče i koktel soku (naranča-limun-mrkva), došlo do neznatne promjene u količini vitamina C nakon 3 tjedna čuvanja pri 4°C. Također, nije bilo značajne promjene u udjelima karotena, fruktoze, glukoze i saharoze, te antioksidativnom kapacitetu sokova. Koktel sok, tretiran pri višem tlaku (800 MPa) pokazao je, nakon skladištenja, značajne promjene samo u mirisu i ukusu, to jest intenzivniju aromu mrkve.

Primjena *ionizirajućeg zračenja* u prehrambenoj industriji napredovala je sporo, ponajprije zbog nepovjerenja potrošača, međutim, danas je, pored apliciranja na hranu, u značajnoj mjeri prisutna kod sterilizacije ambalaže (Bengtsson i Ohlsson, 2002). Zemlje u kojima se danas zračenje komercijalno koristi su: Nizozemska, Engleska, Belgija, Poljska, Češka, Italija i Francuska. Neke zemlje, uključujući i Njemačku, nisu prihvatile metodu zračenja u potpunosti (samo za sterilizaciju začinskog bilja).

Hrana se u Hrvatskoj smije podvrgavati ionizirajućem zračenju u sljedeće svrhe:

- zbog uništavanja patogenih organizama u svrhu smanjivanja pojavljivanja bolesti koje se prenose hranom
- zbog uništavanja organizama koji kvare hranu, a zbog smanjivanja kvarenja hrane usporavanjem ili zaustavljanjem procesa kvarenja,
- zbog smanjivanja gubitka hrane zbog prijevremenog zrenja, klijanja i proklijavanja,
- zbog uklanjanja iz hrane organizama opasnih za biljke ili biljne proizvode.

Sigurna doza zračenja, odnosno najveća dopuštena doza za prehrambenu industriju iznosi 10 kGy (NN 38/2008).

Primjenom ionizirajućeg zračenja, u određenim slučajevima, možemo dobiti potpuno sterilnu hranu. Pored pozitivnih učinaka zračenje može izazvati i neželjene promjene u kemijskom sastavu i senzornim osobinama. Stoga postoji mogućnost kombiniranja s drugim metodama konzerviranja, pri čemu se aplicirane doze zračenja mogu smanjiti.

Ionizirajuće zračenje predmetom je brojnih istraživanja (Calado i sur., 2014; Kalawate i Mehetre, 2015; Choi i Lim, 2016). Kalagatur i sur. (2018) u svom istraživanju opisuju učinak ionizirajućeg zračenja na kvalitetu i sastav, te detoksikaciju mikotoksina zearalenona u sokovima od naranče,

ananasa i rajčice. Pri dozama od 2,5, 5 i 7,5 kGy nije bilo značajne promjene u kvaliteti sokova, ali pri dozi od 10 kGy zračenje je prouzročilo značajne promjene u senzorskoj kvaliteti sokova. Količina ukupnih fenola i flavonoida, kao i antioksidativna aktivnost u voćnim sokovima, smanjila se nakon provedene metode, a najznačajnije promjene primijećene su pri dozi zračenja od 10 kGy.

*Pulsirajuće električno polje* (PEP), odnosno pulsirajuće električno polje visokog intenziteta (HIPEF) patentirano je 80-ih godina prošlog stoljeća u svrhu inaktivacije mikroorganizama u hrani (Bengtsson i Ohlsson, 2002.). Metoda je prvi put upotrijebljena za pasterizaciju mlijeka istosmjernom strujom (WEB 1). Primjena pulsirajućeg električnog polja, kao alternativa pasterizaciji voćnih sokova, daje dobre rezultate bez narušavanja senzorske kvalitete. Može se koristiti kao zasebna metoda ili u kombinaciji s drugim postupcima. Pri obradi voćnih sokova, PEP se primjenjuje u tehnologiji preprekama u kombinaciji s brojnim drugim mogućnostima, na primjer antimikrobnim aditivima, termičkom obradom, ultraljubičastim svjetlom i manotermosonifikacijom (Putnik i sur., 2020).

Inaktivacija mikroorganizama PEP tehnikom bazira se na uništavanju stanica mikroorganizama zbog razlike u potencijalu unutar i van stanica (Barba i sur., 2015). Dziadek i sur. (2019) u svom istraživanju potvrđuju da primjenom PEP metode u soku od jabuke nije primijećena značajna promjena u količini vitamina C i sadržaju polifenola. Apliciranje 400 impulsa (jačine električnog polja 30 kV/cm) omogućilo je stabilnost soka 72 sata nakon obrade i čuvanja pri 4 °C, dok je obrada s 300 impulsa osigurala mikrobiološku stabilnost 48 sati nakon PEP obrade. PEP metoda bila je učinkovita za inaktivaciju širokog spektra najčešćih mikroorganizama koji kvare hranu, poput mezofilnih bakterija, plijesni i kvasca.

*Pulsirajuće svjetlo* (PS) kao netermička metoda intenzivnije se koristi od 1996. godine, kada je FDA odobrila kao metodu za inaktivaciju, odnosno redukciju mikroorganizama u hrani, materijalima za pakiranje, kao i obradu površina, prostora, uređaja te medija koji su uključeni u proces proizvodnje hrane (Barbosa-Cánovas i sur., 2005). To je metoda kojom se u svrhu konzerviranja hrane koristi spektar "bijelog svjetla" od ultra-ljubičaste svjetlosti (UV) do bliže infra-crvene (IR), koje se dozira u pulsevima visokog intenziteta, a traje nekoliko stotina mikrosekundi. Destruktivno djeluje na mikroorganizme uslijed istovremenog fotokemijskog i fototermičkog učinka. Međutim, mnogi mikroorganizmi su otporni na djelovanje PS, pa se metoda više bazira na površinsku primjenu i kombinira s drugim metodama.

Muñoz i sur. (2012) su u svojim istraživanjima praćenjem učinaka PS i termosonifikacije, posebno i u kombinaciji zaključili da je učinak kombinirane obrade u cilju inaktivacije *Escherichia coli* u soku od jabuke uspješniji. Sve obrade su značajno utjecale na boju soka od jabuke.

Zajedno s visokim tlakom i pulsirajućim električnim poljem i *ultrazvuk* (UZ) ili sonifikacija je zadnjih godina često istraživana „mehanička“ tehnika procesiranja hrane. Ultrazvuk niskog intenziteta fizički ne oštećuje materijal kroz koji prolazi i koristi se za analizu sastava, strukture i viskoznosti namirnica, dok se intenzivni ultrazvučni valovi koriste u preradi namirnica.

Tijekom obrade hrane UZ-om nastaje toplina zbog nastanka kavitacija koje su uzrok brze promjene temperature i tlaka (WEB 1). Prilikom implozije mjehurića, uslijed visokog tlaka i temperature dolazi do narušavanja stanične strukture i inaktivacije mikroorganizama (Bengtsson i Ohlsson, 2002).

Osim antimikrobnog djelovanja, ultrazvučni učinci se mogu primijeniti i za poboljšanje mnogih tehnoloških operacija i procesa, kao što su ekstrakcija, homogenizacija, filtracija i emulgiranje, kao i ubrzavanje kristalizacije, zamrzavanja i sušenja (Valero i sur., 2007; WEB 1).

Nakon primjene ultrazvuka (40 kHz) i/ili UV-C zračenja (30 W) tijekom 15, 30 i 60 minuta, Santhirasegaram i sur. (2015) u svom istraživanju na temelju rezultata zaključuju kako je nakon 5 tjedana čuvanja pri 4 °C produžena trajnost soka u odnosu na kontrolni uzorak. Zabilježena je značajnija ekstrakcija fenolnih komponenti. U usporedbi s kontrolnim uzorkom, u sokovima tretiranim ultrazvukom primijećeno je povećanje antioksidativne aktivnosti.

## 2.2. Visokonaponsko električno pražnjenje i hladna plazma

Visokonaponsko električno pražnjenje (High Voltage Electrical Discharge - HVED) je tehnika s primjenom usmjerenom, najčešće, na pražnjenje u tekućinama, tijekom kojeg se generira plazma. Plazma može biti djelomično ili potpuno ionizirani plin, koji se sastoji od elektrona, slobodnih radikala, pozitivno i negativno nabijenih iona, atoma i molekula u osnovnom ili pobuđenom stanju, te fotona UV zračenja (Misra i sur., 2016). Pojam „ionizirani“ znači kako najmanje jedan elektron koji nije vezan za atom ili molekulu, prevodi atome ili molekule u pozitivno nabijene ione (Fridman, 2008). Bilo koji izvor energije koji može ionizirati plin može biti zaslužan za generiranje plazme (Misra i sur., 2016).

Kako raste temperatura, tako i molekule sadrže sve više energije u određenom sustavu i prelaze iz čvrstog u tekuće, plinovito stanje i na kraju plazmu što opravdava titulu „četvrtog stanja tvari“ (Fridman, 2008). Prvi znanstvenik koji je radio sa plazmom te ju prvi 1928. godine nazvao tim imenom je Irving Langmuir (Thirumdas i sur., 2014). Riječ plazma potječe od grčke riječi *plásma* što znači oblikovati (WEB 2).

Hladna plazma kao jedna od netermičkih metoda osigurava minimalnu promjenu nutrijenata, kao i senzorskih svojstava (Umair i sur., 2019; Won i sur., 2016). Metoda ima određene prednosti u odnosu na tradicionalne metode konzerviranja i druge netermičke metode (Umair i sur., 2019). Jednostavna je za izvedbu, ne zahtijeva upotrebu vode i može imati značajnu primjenu u prehrambenoj industriji. Koristi se za inaktivaciju enzima, dekontaminaciju hrane, kao i površina koje dolaze u kontakt s hranom, kao na primjer staklo, metali, agar i dr. (Amidi, 2011; Shi i sur., 2011). Dekontaminacija plazmom je brza, efikasna, sigurna metoda i sprječava moguće posljedice koje bi nastale zagrijavanjem, kemijskim sredstvima ili zračenjem (Amidi, 2011). Također ima primjenu za pročišćavanje otpadnih voda. U prehrambenoj industriji se dokazala učinkovitost hladne plazme protiv patogenih mikroorganizama koji se prenose hranom kao što su *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium*, *Staphylococcus aureus* i *Listeria monocytogenes* (Pankaj i sur., 2018).

Tijekom dekontaminacije hrane plazma bi trebala imati temperaturu što bližoj temperaturi prostora u kojem se provodi obrada (Perni i sur., 2008). Slobodni elektroni u hladnoj plazmi mogu dosegnuti temperaturu od 10000°C, a temperatura iona i neutralnih čestica je otprilike sobne temperature (Yu, 2020). Reaktivni radikali i druge aktivne komponente u hladnoj plazmi imaju glavnu ulogu u inaktivacijskim procesima (Wang i sur., 2012). Niemira i Sites (2008) primijenili su hladnu plazmu („gliding arc reactor“-sustav pražnjenja lukom) tijekom 1, 2 i 3 minute nakon

inokulacije patogena *Escherichia coli* O157:H7 i *Salmonella Stanley* na površine jabuka sorte *Golden Delicious*. Brzina inaktivacije rasla je paralelno s dotokom radnog plina (suhi zrak, 10-40 L min<sup>-1</sup>) tijekom obrade. Van de Veen i sur. (2014) ustanovili su kako je utjecaj hladne plazme na spore bakterija veći nego utjecaji uobičajenih metoda kao što su zagrijavanje, primjena dezinfekcijskih sredstava (hidrogen peroksid, hipoklorit) i UV zračenje.

### 2.2.1. Stvaranje (generiranje) hladne plazme i fizikalno – kemijska svojstva

Glavni doprinos kinetici plazme je vibracijsko pobuđivanje molekula zato što elektroni plazme prenose većinu energije u plinove kao što su N<sub>2</sub>, CO, CO<sub>2</sub>, H<sub>2</sub>, te dalje u pobuđeno stanje.

Glavni proces u ionizaciji plazme je pretvorba neutralnih atoma ili molekula u elektrone i pozitivne ione (Fridman, 2008). Plinovita plazma nastaje kada se molekule plina ioniziraju, što se inače postiže vanjskim dovodom električnog polja. Kada primijenjeno električno polje dosegne vrijednost veću od praga za proboj plina, elektroni se vežu za molekule plina kako bi na sebe preuzele energiju koja im je potrebna za odvajanje od tih istih molekula plina. Kao rezultat nastaje ionizirani plin koji se naziva plazma (Perni i sur., 2008). Prema temperaturi i gustoći elektrona, plazma može biti nisko-temperaturna i visoko-temperaturna. Preciznije, prema termodinamičkoj ravnoteži nisko-temperaturna plazma može biti termička i netermička (hladna) plazma (Pan i sur., 2019). Osim toga, plazma se može klasificirati kao atmosferska ili nisko tlačna plazma, što ovisi o uvjetima tlaka. Atmosferska plazma generira se pri standardnim atmosferskim uvjetima bez potrebe za komorom i pumpom za postizanje tlaka (Ozen i Singh, 2020).

Tijekom obrade hladnom plazmom može doći do sudara elektrona čime se onda elektronima mijenjaju smjer i energija koju posjeduju. Ali, zbog nejednakosti u masi između elektrona i težih čestica prilikom sudara ne dolazi do prijenosa impulsa. Neke od primarnih reakcija do kojih može doći tijekom sudara su:

- ionizacija:  $e + M \rightarrow M^+ + 2e$ ,
- disocijativna ionizacija:  $e + AB \rightarrow A^+ + B + 2e$ ,
- vezanje elektrona:  $e + M \rightarrow M^-$ ,
- disocijativno vezanje elektrona:  $e + AB \rightarrow A^- + B$ ,
- ekscitacija:  $e + M \rightarrow M^* + e$ ,
- disocijacija:  $e + AB \rightarrow A + B$  (Whitehead i sur., 2016).

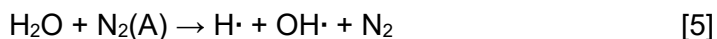
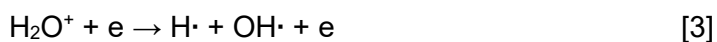


Mogućnost jedne od navedenih reakcija ovisi o energiji elektrona i području križanja s ostalim česticama. Produkti primarnih reakcija postaju reaktanti u sekundarnim reakcijama plazme (Whitehead i sur., 2016).

Hidroksilni radikal ( $\text{OH}\cdot$ ) je vrlo reaktivan i može nastati u primarnim i sekundarnim reakcijama tijekom sudara u plazmi.  $\text{OH}\cdot$  radikal ima izrazitu sposobnost oksidacije - na primjer može izdvojiti atom vodika iz organskog spoja (RH) kako bi nastao radikal  $\text{R}\cdot$  [1].



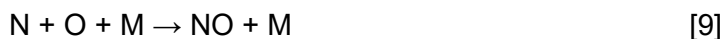
U primarnim reakcijama, disocijacijom vode nastaje  $\text{OH}\cdot$  radikal [2], odnosno u sekundarnim reakcijama neutralizacije iona [3], pri čemu mogu nastati i vodikovi radikali ( $\text{H}\cdot$ ). Osim navedenog, nastaje i u reakcijama u pobuđenom stanju atoma kisika [4] i molekularnog dušika [5], nastalih u primarnim reakcijama (Whitehead i sur., 2016).



Radikali koji su nastali u prethodnim reakcijama mogu međusobno reagirati, te pritom tvoriti stabilne molekule  $\text{H}_2$  [6],  $\text{H}_2\text{O}_2$  [7] i  $\text{H}_2\text{O}$  [8].



Kao primjer drugih sekundarnih reakcija nakon pobude elektrona u plazmi mogu nastati dušikovi oksidi ( $\text{NO}$ ,  $\text{NO}_2$ ,  $\text{N}_2\text{O}$  i  $\text{N}_2\text{O}_5$ ). Prvi korak je rekombinacija atoma dušika i kisika nastalih u primarnim reakcijama sudara elektrona gdje je M u reakciji bilo koja molekula plina, pri čemu nastaje dušikov (II) oksid ( $\text{NO}$ ) [9]. Nadalje,  $\text{NO}$  se može stvarati u reakcijama pobuđenih atoma kisika [10] i dušika sa molekularnim dušikom ili kisikom [11].



Uz pomoć atoma kisika [12] ili ozona [13], nastali NO može oksidirati do dušikovog (IV) oksida (NO<sub>2</sub>).



Obrnuto, iz NO<sub>2</sub> u reakciji s kisikovim atomom može nastati NO [14]. U reakciji NO<sub>2</sub> s kisikovim atomom nastaje NO<sub>3</sub> [15] koji sudjeluje u reakciji s NO<sub>2</sub> te nastaje dušikov (V) oksid (N<sub>2</sub>O<sub>5</sub>) [16]. Osim toga, NO<sub>2</sub> može reagirati i sa dušikovim atomom tvoreći pritom dušikov (I) oksid (N<sub>2</sub>O) [17] (Whitehead i sur., 2016).



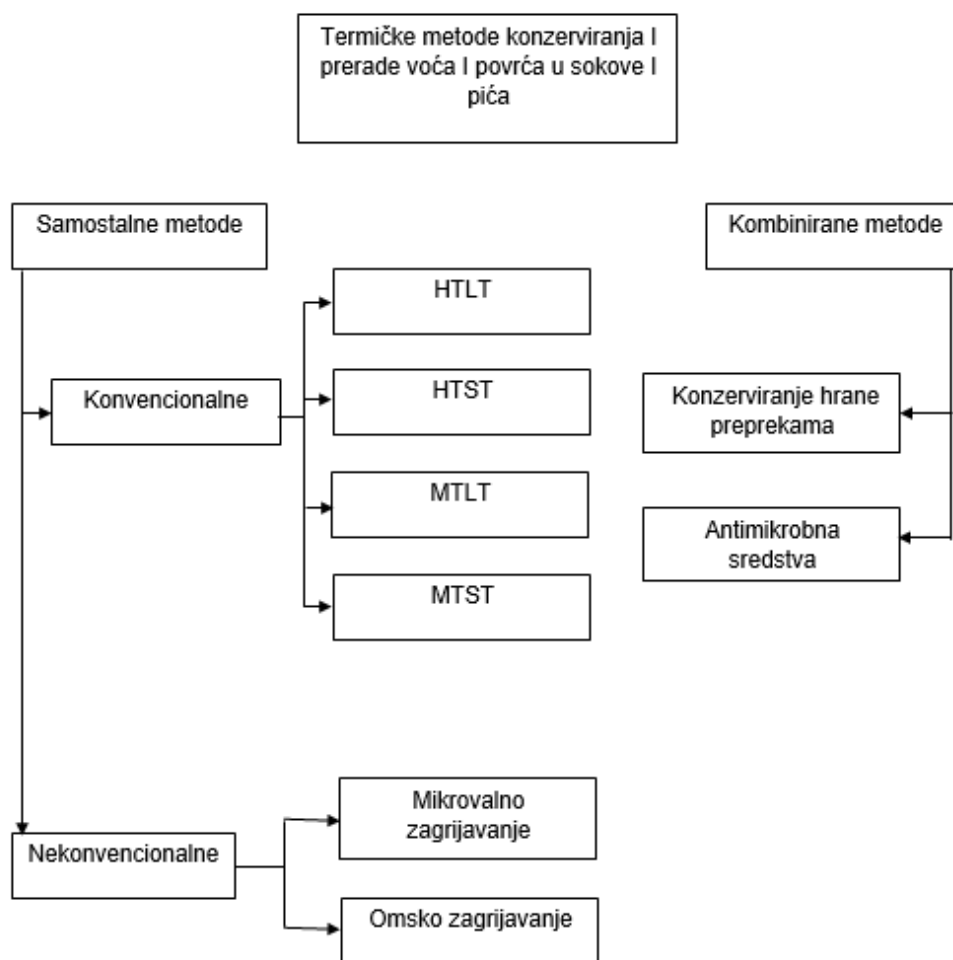
Iz ovih složenih konkurentskih istodobnih i uzastopnih reakcija izračun je pokazao kako se N<sub>2</sub>O<sub>5</sub> pojavljuje tek oko 0,1 s. Da bi se opisala kemija plazme, čak i za sustav tako jednostavan kao što je zrak, potreban je reakcijski mehanizam koji uključuje mnoge produkte, neke stvorene pražnjenjem elektrona koji puno kasnije generiraju kratkotrajne međuprodukte, čineći dio složenog skupa reakcija koje na kraju daju niz reakcijskih produkata.

### 2.2.2. Primjena plazme u procesiranju tekućih proizvoda

Voćni sokovi imaju pozitivan utjecaj na ljudsko zdravlje zahvaljujući bioaktivnim komponentama i fitokemikalijama. Konzumacija voćnih sokova štiti od kroničnih bolesti kao što su karcinomi i kardiovaskularne bolesti (Ozen i Singh, 2020). Globalna potražnja za voćnim sokovima bilježi porast, pogotovo za onima konzerviranim jednostavnim metodama hlađenja (Jordão, 2018). Zbog narušavanja organoleptičkih svojstava sokova primjenom termičke obrade potrošači su sve više zainteresirani za minimalno procesirane proizvode (Ozen i Singh, 2020). Primjenom topline gubi se svježina i kvalitativna svojstva koja doprinose zdravlju (Bradzik i sur., 2016). Potrošači su stoga spremni platiti višu cijenu za kvalitetnije sokove tretirane netermičkim metodama.

Termičke metode procesiranja tekuće hrane kao što su pasterizacija i sterilizacija najčešće su metode konzerviranja, ali djelovanje topline istovremeno ima za posljedicu gubitak spojeva odgovornih za senzorska i nutritivna svojstva, kako tijekom procesiranja, tako i skladištenja

proizvoda (Barba i sur., 2012; Petruzzi i sur., 2017). U sokovima od voća može doći do promjene boje uslijed reakcija posmeđivanja, kao što su na primjer Maillardove reakcije i degradacija prirodnih pigmenata (Yu, 2020). Primjenom alternativnih termičkih metoda konzerviranja, kao što su mikrovalno i omsko zagrijavanje voćnih sokova, uočeno je poboljšanje kvalitete proizvoda. Nadalje, istraživanja su usmjerena i na kombinaciju termičkih (**Slika 2**) i netermičkih tehnika primjenom tehnologije preprekama („hurdle technology“). Za razliku od tradicionalnih metoda obrade sokova, ovim se načinom osigurava mikrobiološka stabilnost sokova uz minimalnu nutritivnu degradaciju.



**Slika 2** Prikaz termičkih metoda konzerviranja i prerade voća i povrća u sokove i pića; HTLT-high temperature-long time, HTST-high temperature-short time, MTLT-mild temperature-long time, MTST-mild temperature-short time (Petruzzi i sur., 2017)

Američka agencija za hranu i lijekove (FDA – Food and Drug Administration) potiče istraživanja kako bi se pronašle nove i sigurne netermičke metode za konzerviranja sokova. Sukladno tome, nekoliko netermičkih tehnologija konzerviranja je razvijeno, a to su: pulsirajuće električno polje, obrada visokim tlakom, ultrazvučno procesiranje, membranski procesi i dr. (Ozen i Singh, 2020). U većini navedenih metoda temperaturni porast je beznačajan. Svrha netermičkih metoda je inaktivacija prisutnih mikroorganizama i enzima bez narušavanja nutritivne vrijednosti i senzorskih svojstava, koje bi inače degradirali tijekom termičke obrade (Barba i sur., 2012).

Električno pražnjenje u tekućinama razlikuje se u odnosu na plinove. Zbog veće gustoće u odnosu na plinove, kretanje elektrona je puno kraće i nemoguće je postići ubrzanje elektrona kao kod plinova. Također, u tekućinama je ionizacijski potencijal molekula puno veći i potrebno je više energije za uklanjanje elektrona.

Hladna plazma je jedna od novijih netermičkih metoda konzerviranja voćnih sokova. Broj istraživanja u području njezine primjene se dvostruko povećao u samo nekoliko godina. Istraživanja su pokazala da aktivne molekule pobuđene hladnom plazmom u vodenim otopinama mogu učinkovito inaktivirati mikroorganizme (Starek i sur., 2019). Primjenom hladne plazme mogu se osigurati bolja kvalitativna svojstva i nutritivna vrijednost sokova (Yu, 2020). Shi i sur. (2011) svoje su istraživanje temeljili na primjeni nisko-temperaturne plazme na svježije cijedenom soku od naranče, te na temelju rezultata potvrdili kako se obradom pomoću plazme može produžiti trajnost soka. Zaključili su kako kombinacija vremena i doze utječe na učinkovitost plazme u inaktivaciji mikroorganizama.

Dostupna istraživanja pokazuju antibakterijski i antifungalni utjecaj hladne plazme na pasterizirane sokove prethodno kontaminirane patogenim mikroorganizmima. Neki autori analizirali su utjecaj plazme na fizikalno-kemijska svojstva sokova (Starek i sur., 2020). Na primjer, Xu i sur. (2017) zaključili su kako obrada hladnom plazmom može biti učinkovita netermička metoda za kontrolu ili potencijalnu eliminaciju *Salmonella* u pasteriziranom soku naranče s minimalnom promjenom kvalitete soka. Dasan i Boyaci (2018) uočili su smanjenje broja bakterija primjenom plazme u soku od naranče, jabuke i rajčice. Xiang i sur. (2018) inaktivirali su *Zygosaccharomyces rouxii*, a Surowsky i sur. (2014) *Citrobacter freundii* u soku od jabuke primjenom hladne plazme.

## 2.3. Šipak

### Botanička pripadnost

Šipak ili divlja ruža je vrsta ruže koja se ubraja u rod *Rosa canina* L. U narodu se poznaje pod različitim imenima: šipak, obični šipak, divlji šipak, šepurina, šipčanica, pasja ruža, pasja roža, šibek, bela ruža, šipurika, šip i još mnogim drugim. Pasjom ružom naziva se zato što su stari Rimljani vjerovali kako šipak može izliječiti i bjesnoću pasa (latinski naziv vrste *canina* je *canis* = pas). Pasja ruža je najraširenija divlja ruža u Hrvatskoj, a ujedno i glavni predstavnik divljih ruža. Općenito se ruže (*Rosa spp.*) ubrajaju u red *Rosales*, porodicu *Rosaceae*, podporodicu *Rosidae* i rod *Rosa* L (Šindrak i sur., 2013). Detaljnija klasifikacija roda *Rosa* prikazana je u **Tablici 1**.

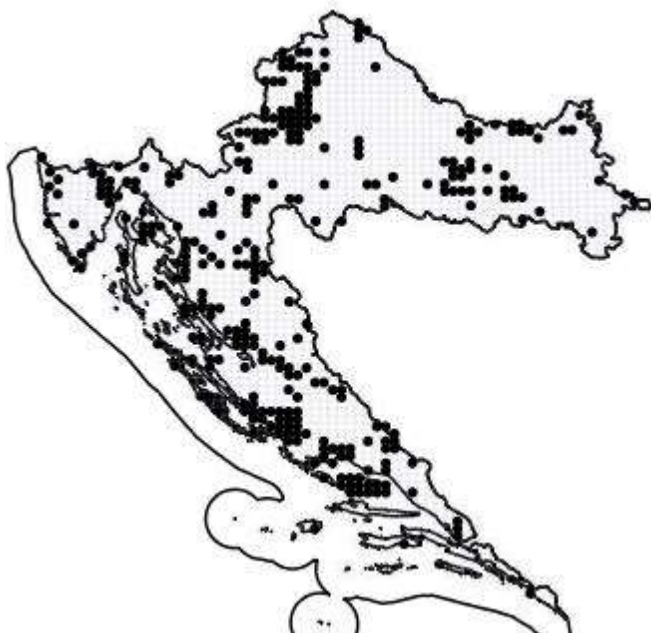
**Tablica 1** Klasifikacija roda *Rosa* (Šindrak i sur., 2013)

<b>Regnum (carstvo)</b>	<b><i>Plantae</i> (biljke)</b>
<b>Subregnum (podcarstvo)</b>	<i>Tracheobionta</i> (vaskularne biljke)
<b>Phylum (odjeljak)</b>	<i>Magnoliophyta</i> ( <i>Spermatophyta</i> - sjemenjače)
<b>Subphylum (pododjeljak)</b>	<i>Magnoliophytina</i> ( <i>Angiospermae</i> - kritosjemenjače)
<b>Classis (razred)</b>	<i>Magnoliopsida</i> ( <i>Dicotyledonae</i> -dvosupnice)
<b>Subclassis (podrazred)</b>	<i>Rosidae</i>
<b>Ordo (red)</b>	<i>Rosales</i> (ružovke)
<b>Familia (porodica)</b>	<i>Rosaceae</i> (ruže, ružičnjače)
<b>Subfamilia (potporodica)</b>	<i>Rosoideae</i>
<b>Genus (rod)</b>	<i>Rosa</i> (ruža)

### Rasprostranjenost i stanište

U Hrvatskoj šipak je rasprostranjen gotovo u svim krajevima (**Slika 3**). Raširen je i u Europi, sjeverozapadnoj Aziji i sjevernoj Africi (Šindrak i sur., 2013).

Šipak obično raste kraj šuma, u živicama te na suhim i plićim tlima u obliku razgranatog grma od jednog do tri metra visine (Komes i sur., 1996; Šindrak i sur., 2013). Može se pronaći i u šikarama, na pašnjacima i livadama, uz cestu, u nizinama, na brdskim i planinskim predjelima, na šumskim proplancima i u različitim zajednicama hrastovih i grabovih šuma. Voli glineno do kamenito tlo, svjetlo i polusjenu (Šindrak i sur., 2013).



**Slika 3** Rasprostranjenost *R. canina* u Hrvatskoj (Stanić, 2017)

### Morfološke karakteristike

Listovi, cvjetovi (**Slika 4**) i plod šipka (**Slika 5**) već se tisućama godina koriste u medicinske svrhe. Listovi imaju antioksidacijska i antiupalna svojstva, a cvjetovi imaju antibakterijski i antioksidacijski efekt kada se koriste u preparatima namijenjenim za kožu ili kao oblog (Koczka i sur., 2018). Izbojci pasje ruže, savijeni u oblik lukova su goli i vitki sa slabo izraženim nodijima i kukasto savinutim trnovima dugih do deset milimetara. Zbog oblika trnova, točnije njegovog proširenja pri dnu, podsjećaju na pseće zube. Cvjetovi pasje ruže su bijeli ili ružičasti, veliki, te imaju ugodan i nježan miris. Vrijeme cvatnje je u razdoblju od svibnja do srpnja, a nakon cvjetanja slijedi otpadanje latica, a ostaje plod, šipak. U početku, plod je zelen i mesnat, pun sitnih, blijedožutih,

uglatih i tvrdih sjemenki pokrivenih svilenkastim dlačicama. Šipak se može brati od rujna pa nadalje (Šindrak i sur., 2013).



**Slika 4** Cvijet šipka (WEB 4)



**Slika 5** Plod šipka (WEB 4)

## Upotreba

Šipak se koristi u medicinske, farmaceutske i prehrambene svrhe (Leahu i sur., 2014). Od njega se pripremaju čajevi, kompoti, sokovi i želirani proizvodi. Mladi listovi i sjemenke također se mogu koristiti za izradu čaja. Osim tog, od šipka se mogu napraviti i jogurti, osvježavajuća pića i sladoled. Svježi plodovi šipka se ne preporučuju za konzumaciju (Šindrak i sur., 2013). Šipak se, zbog antiupalnih svojstava, koristi u liječenju dijabetesa i raka, reume i gihta, a pulpa ploda koristi se kao diuretik u liječenju osteoartritisa (Mármol i sur., 2017; Parađiković, 2014; Leahu i sur., 2014). Harrison (2012) je istraživao prednosti vitamina C iz šipka u liječenju kognitivnih poteškoća i Alzhajmerove bolesti. Osim navedenog, šipak se koristi i za čišćenje krvi i detoksikaciju organizma, kod bolesti bubrega (u svrhu izbacivanja bubrežnih kamenaca) i mjehura, kod problema s probavom (dijareja i slično). Šipak je koristan i za jetru jer pojačava stvaranje i izlučivanje žuči (Parađiković, 2014).

## Kemijski sastav ploda šipka

Najveći dio ploda, 65-70% obuhvaća mesnati dio ploda, a 30-35% sjeme. Mesnati dio šipka prosječno sadrži: vodu (oko 50%), a u suhoj tvari su prisutni ugljikohidrati (oko 22%), odnosno pektinske tvari, invertni šećer (10,0-13,7%) saharoza (0,6-2,4%), zatim proteini (manje od 4%), tanini (2,0-2,7%), kiseline, pepeo (2,4%) i dr. Od pigmenata prisutni su karotenoidi i flavonoidi. Također, sadrži brojne minerale (**Tablica 2**) i vitamine (**Tablica 3**).

**Tablica 2** Prosječni sadržaj minerala u plodu *Rosa canina laxa* (WEB 5)

<b>Mineral</b>	<b>u 100 g ploda</b>
<b>Fosfor</b>	61 mg
<b>Kalij</b>	429 mg
<b>Kalcij</b>	169 mg
<b>Magnezij</b>	69 mg
<b>Željezo</b>	1,06 mg
<b>Bakar</b>	0,113 mg
<b>Cink</b>	0,25 mg
<b>Mangan</b>	1,02 mg
<b>Natrij</b>	4 mg



### Askorbinska kiselina

Plodovi šipka popularni su zbog visokog sadržaja vitamina C koji u ljudskom organizmu sudjeluje u raznim fiziološkim procesima, te omogućava normalnu funkciju endokrinih žlijezda i mozga (Šindrak i sur., 2013; Leahu i sur.,2014).

Vitamin C pripada esencijalnim vitaminima koje ljudski organizam ne može samostalno sintetizirati. Pored antioksidacijskog djelovanja, pokazuje još niz različitih biokemijskih funkcija u našem organizmu. Sadržaj vitamina C u namirnicama biljnog podrijetla ovisan je o uvjetima uzgoja i čuvanja sirovina. Voće ima prednost u odnosu na mnoge vrste povrća, jer je zbog kisele sredine u voću sadržaj stabilniji, za razliku od povrća, u većini kojeg je neutralan pH. Pripada skupini vitamina topljivih u vodi, te lako degradira ovisno o temperaturi, svjetlosti, prisutnosti kisika, enzima, metala, primijenjenim tehnološkim postupcima, uvjetima i vremenu skladištenja, i dr. (Šindrak i sur., 2013).

Vitamin C pojavljuje se u dvije biološki aktivne forme: L-askorbinsku kiselinu i L-dehidroaskorbinsku kiselinu (oksidirani oblik). L-askorbinska kiselina ima višestruku funkciju u metabolički aktivnim biljnim i animalnim stanicama. Jedna od glavnih biokemijskih reakcija je razaranje toksičnih slobodnih radikala (hidroksilnih i perhidroksilnih), stvaranje helata s ionima metalima i kompleksa s proteinima. Proces degradacije askorbinske kiseline vrlo je kompleksan i sastoji se od brojnih reakcija oksidacije/redukcije, kao i reakcija intermolekularnog premještanja. Osim što pri razgradnji dolazi do pada nutritivne vrijednosti hrane, postoji mogućnost da produkti razgradnje sudjeluju u tvorbi nepoželjne arome i reakcijama neenzimskog posmeđivanja (WEB 3).

Askorbinska kiselina najčešće se u hrani određuje oksidometrijskom titracijom s 2,6-diklorfenol indofenolom i kromatografijom, te kolorimetrijskim metodama.

**Tablica 3** Prosječne količine vitamina u plodu *Rosa canina laxa* (WEB 5)

<b>Vitamin</b>	<b>u 100 g svježeg ploda</b>
<b>Vitamin C</b>	426 mg
<b>Vitamin B1</b>	0,016 mg
<b>Vitamin B2</b>	5,84 mg
<b>Vitamin K</b>	25,9 µg
<b>Vitamin E</b>	5,84 mg

Sjemenke sadrže proteine (6,9-8,6 %), ulje (6,9-8,6 %) i askorbinsku kiselinu. Zbog prethodno navedenog bogatog sastava, šipak je često predmet istraživanja (Degirmenci i sur., 2018).

### **2.3.1. Proizvodi od šipka**

Pored pulpe i kaše kao poluproizvoda, od šipka se mogu proizvoditi želirani proizvodi (proizvodi na bazi pektinskog gela), sokovi, sirupi, čaj, vina i liker koji su važni izvori limunske kiseline, jabučne kiseline, pektina i šećera, vitamina i minerala (Leahu i sur., 2014). Glavna karakteristika želiranih proizvoda je njihova „čvrsta“ gel konzistencija koja ne bi bila uspješna bez tri čimbenika: pektina, kiselina i šećera (Lovrić i Piližota, 1994). Svježe voće je osnovna sirovina za proizvodnju proizvoda na bazi pektinskog gela (Levaj, 2013). Osim što se kao sirovina koristi svježe voće, ona može biti smrznuta ili polupreradena (na primjer kaša ili pulpa koja je kemijski konzervirana ili pasterizirana). Kod proizvodnje finalnog proizvoda iz poluproizvoda velika je prednost što se može odvijati tijekom cijele godine, kao na primjer proizvodnja džema ili pekmeza od šipka (Brkić, 2020).

U proizvodnji poluproizvoda od šipka, to jest pulpe i kaše, najčešće se sirovina prvo pulpira, a pasiranje se provodi neposredno prije daljnje uporabe. Isto tako, može se i odmah preraditi u kašu (Brkić, 2020).

Voćna pulpa su jestivi dijelovi cijelih plodova voća, po potrebi bez kore, sjemenki, koštica i sličnog, koji mogu biti narezani, sječeni ili prešani, ali ne pasirani u kašu (NN 84/2019). Sirovina se pulpira u ambalažu koja mora biti oprana i sterilna. Kvalitetu pulpe mogu umanjiti neodgovarajući plodovi ili dijelovi plodova, koji se uklanjaju inspekcijom. Nakon što se oprani plodovi stave u ambalažu, dodaje se određena količina sumporaste kiseline koja je maksimalne koncentracije 0,20 do 0,25%. Proizvod u skladištu ne smije biti izložen direktnoj sunčevoj svjetlosti i djelovanju atmosferilija (Niketić-Aleksić, 1988).

Voćna kaša su jestivi dijelovi cijelih plodova voća, po potrebi bez kore, sjemenki, koštica i sličnog koji su prerađeni u kašu pasiranjem ili sličnim postupkom (NN 84/2019). Prerada šipka u kašu započinje blanširanjem parom ili kombinacijom pare i vode. Grubim pasiranjem uklanjaju se neupotrebljivi dijelovi, a poslije toga slijedi fino pasiranje. SO<sub>2</sub> čija je koncentracija najčešće oko 0,20% koristi se za konzerviranje. Kaša se može i pasterizirati zagrijavanjem proizvoda na temperaturu iznad 80°C i puni u prethodno opranu i steriliziranu ambalažu. Pasterizacija se najčešće provodi u protočnom pasterizatoru. Drugi način konzerviranja je zamrzavanje, a služi

uglavnom za preradu u kašaste sokove. Kaša pripremljena za kašaste sokove se nakon pasiranja hladi, zamrzava, pakira i skladišti pri  $-18^{\circ}\text{C}$  (Niketić-Aleksić, 1988).

Prema Pravilniku o voćnim džemovima, želeima, marmeladama, pekmezu te zaslađenom kesten pireu džem je proizvod odgovarajuće želirane konzistencije koji sadrži voćnu pulpu i/ili voćnu kašu jedne ili više vrsta voća, šećer i vodu. Za proizvodnju 1000 g džema od šipka, upotrijebljena količina voćne pulpe i/ili voćne kaše ne smije biti manja od 250 g (NN 84/2019).

Pekmez je proizvod odgovarajuće ugušćene konzistencije proizveden ukuhavanjem voćne pulpe i/ili voćne kaše jedne ili više vrsta voća, sa ili bez dodatka šećera. Količina šećera koju je dozvoljeno dodati u pekmez iznosi najviše 25% u odnosu na ukupnu količinu voća (NN 84/2019).

Postoji razlika u tehnologiji prerade džema i pekmeza, ovisno o tome koristi li se svježi šipak ili poluproizvodi. Proizvodnja džema od kemijski konzervirane pulpe nakon odstranjivanja sjemenki podrazumijeva desulfitaciju. Desulfitacija se izvodi uz miješanje sa zagrijavanjem, i obavlja se u vakuum aparatima. Kaša od šipka i pulpa vrlo se teško desulfitiraju. Ako sadržaj suhe tvari ne prelazi 10%, desulfitacija je uspješnija. Nakon što se  $\text{SO}_2$  ukloni, dodaje se šećer, a kasnije pred kraj kuhanja pektin i kiselina. Količina šećera koja se dodaje ovisi o vrsti proizvoda i recepturi. Kuhanjem se postiže odgovarajuća suha tvar, čiji udio ovisi o tome proizvode li se standardni ili proizvodi snižene energetske vrijednosti (Brkić, 2020).

Za proizvodnju čaja od plodova šipka, plodove je nakon berbe potrebno očistiti od dlačica, uzdužno prerezati, odstraniti koštice, oprati i osušiti. Poželjno je da šipak tijekom sušenja zadrži crvenu boju, tako da se suši na temperaturi od oko  $40^{\circ}\text{C}$  (WEB 6). Tako osušeni šipak čuva se rinfuzno u lanenim ili platnenim vrećicama na hladnom i prozračnom mjestu. Za pripremu čaja od šipka uobičajeno je jednu jušnu žlicu usitnjenog šipka preliti s 2 dL vruće vode. Nakon pet minuta čaj je potrebno procijediti (Brkić, 2020),

Ranija istraživanja pokazala su mogućnost korištenja šipka u prahu u pekarskoj industriji jer predstavlja bogat izvor prirodnih vlakana, minerala, vitamina i enzima. Miješajući klasično brašno sa šipkom u prahu poboljšava se nutritivna vrijednost brašna i bolja su reološka svojstva tijesta zato što ono postaje elastičnije, a gluten čvršći. Osim u pekarskoj industriji, šipak u prahu koristi se i u mliječnoj industriji u proizvodnji jogurta, pogotovo onih namijenjenih djeci zato što njegova prisutnost uvelike mijenja senzorske karakteristike proizvoda (Leahu i sur., 2014). Ganhão i sur. (2010) istraživali su utjecaj ekstrakta šipka u odresku za hamburgere. Zaključili su da ekstrakt poboljšava oksidativnu stabilnost, boju i teksturu odreska za hamburgere bez negativnih posljedica.

Osim u prehrambene svrhe, ulje iz koštica šipka koristi se u kozmetici zbog njegovog djelotvornog učinka kod raznih oboljenja na koži (Mármol i sur., 2017). Ulje je najkorištenije za uklanjanje bora i protiv starenja kože, kod staračkih pjega, ožiljaka i ekcema te kod strija. Također, preporuča se u svakodnevici zato što hidratizira i revitalizira kožu te povećava elastičnost (Parađiković, 2014).

### **2.3.2. Kašasti sok**

Prema Pravilniku o voćnim sokovima i njima sličnim proizvodima namijenjenim za konzumaciju (NN 48/2013), voćni sok je proizvod koji može fermentirati ali je nefermentiran, a proizvodi se od jestivog dijela voća koje je zdravo, svježije ili konzervirano hlađenjem ili smrzavanjem jedne ili više vrsta pomiješanih zajedno, a ima boju, aromu i okus karakterističan za sok od voća od kojeg potječe. Voćni sokovi mogu se podijeliti na bistre, mutne i kašaste (WEB 3). Kašasti sok ili voćni nektar sadrži stanični sok i tkivo jestivog dijela ploda.

U svim fazama proizvodnje voćnih sokova, postupci su kontinuirani, od ulaska sirovine u pogon do otpreme na skladištenje ili distribuciju. Postupci proizvodnje voćnih sokova razlikuju se ovisno o tome koja se vrsta soka proizvodi. Prilikom prerade u sok, bitno je da je voće tehnološki zrelo i zdravo, bogato pektinskim tvarima, intenzivne boje i arome, te sa što većim udjelom suhe tvari. Za proizvodnju bistrih sokova koristi se voće čiji su pigmenti (antocijani, flavonoidi) topljivi u vodi, to jest u staničnom soku. Mutni sok sadrži manji udio netopljivih čestica koje se ne smiju taložiti. Za proizvodnju kašastog soka se koristi voće koje sadrži pigmente netopljive u vodi (WEB 3).

Kašastim sokovima dopušteno je: vraćanje arome, pulpe i čestica voćnog tkiva, dodavanje šećera i/ili meda do 20% ukupne mase finalnog proizvoda i/ili dodavanje sladila. Minimalna količina soka i/ili kaše za proizvodnju kašastog soka od šipka iznosi 40% (NN 48/2013). Suha tvar voća, šećer koji se dodaje voćnoj kaši ili kašastom soku te kiseline, čine suhu tvar kašastog soka.

U proizvodnji kašastog soka potrebno je zadržati što ravnomjerniju raspodjelu čestica „mutnoće“ u soku i spriječiti njihovo taloženje. Građa ploda određene vrste voća ima važnu ulogu kod odabira postupka proizvodnje i pojedinih tehnoloških operacija. Proizvodnja kašastog soka započinje prihvatom sirovine, njenim pranjem, inspekcijom i mljevenjem (WEB 3). Dalje slijedi toplinska obrada, to jest blanširanje, koja pomaže u omekšavanju tkiva i inaktiviranju enzima. Blanširanje je proces kratkotrajne termičke obrade hrane, predloženi mehanizmi inaktivacije mikroorganizama mikrovalovima su:

- djelovanje topline
- netermički učinci (elektropolacija, razaranje staničnih stijenki i izlaženje staničnog soka, uništenje stanica djelovanjem magnetskog polja na bitne stanične molekule)

Prednost se daje mikrovalnom blanširanju u odnosu na termičko, jer omogućava bolje očuvanje termolabilnih hranjivih tvari i aromatičnih sastojaka (WEB 1). Zatim slijedi operacija pasiranja, u kojoj se kao rezultat dobije voćna kaša kao poluproizvod. Nakon pasiranja slijedi hlađenje, priprema šećernog sirupa i filtriranje, miješanje, deaeracija, homogenizacija i pasterizacija. Operacija miješanja odnosi se na „korekciju“ kašastog soka, odnosno miješanje kaše sa šećernim sirupom, kiselinom, i ako je potrebno, nekim stabilizatorom. Deaeracija ili odzračivanje je postupak koji se odnosi na uklanjanje zraka iz soka. Pod homogenizacijom podrazumijeva se stabilizacija sustava i sprječavanje taloženja. Ako se sok ne proizvodi odmah, kaša se može skladištiti kao polupreradačevina, konzerviranjem pasterizacijom i čuvanjem u aseptičnim uvjetima u spremnicima ili zamrzavanjem i čuvanjem u hladnjači pri temperaturi ispod -18°C. Završni postupak u proizvodnji kašastog soka je punjenje u ambalažu. Danas se uglavnom primjenjuje tehnika aseptičkog pakiranja, koja zahtijeva relativno skupu opremu (WEB 3).

## 2.4. Utjecaj hladne plazme na kvalitetu voćnih sokova

Pojam kvaliteta potječe od latinske riječi „qualitas“, a znači odliku, vrijednost, svojstvo i značajku. Postoji više definicija kvalitete, na primjer „Kvaliteta je zadovoljstvo kupca“. Prema normi ISO 9000 definicija kvalitete glasi: „Kvaliteta je stupanj do kojeg skup svojstvenih karakteristika ispunjava zahtjeve“ (WEB 7).

Kvaliteta hrane je važna u prodaji iste, zbog toga što, između ostalog, senzorska svojstva i osjećaj u ustima nakon što se hrana proguta utječu na prihvaćanje proizvoda od strane potrošača. Osim što je boja indikator nutritivnih i organoleptičkih promjena u hrani tijekom procesiranja, ona se koristi i kao kontrolni parametar kvalitete zato što su pigmenti (prirodni ili sintetski) i kemijske reakcije (enzimske ili ne enzimске) zaslužni za nastajanje boje proizvoda. Također, promjena boje hrane daje informaciju o uspješnosti procesiranja (Ozen i Singh, 2020). Bilo koja drastična promjena na proizvodu vodi do nepoželjnog utjecaja na prihvaćanje proizvoda od strane potrošača, i u nekim uvjetima, na vijek trajanja proizvoda.

Pankaj i sur. (2018) sumirali su utjecaj plazme na kvalitetu voćnih sokova, pri čemu je u nekim sokovima utjecaj na boju bio neznan (sok od bijelog grožđa, sok od naranče) ili nije bio statistički značajan (sok od nara, sok od mandarine).

Kvaliteta procesirane hrane uvelike ovisi o pH vrijednosti i kiselosti. Illera i sur. (2019) potvrđuju smanjenje pH vrijednosti svih uzoraka soka od jabuke tretiranih plazmom. Nakon četiri i pet minuta tretmana pH se smanjio s 3,73 na 3,59. Nakon 28 dana skladištenja, pH vrijednost soka ostala je ista kao i kod mjerenja neposredno nakon tretmana plazmom. Thirumdas i sur. (2018) objasnili su kako taj efekt nastaje tijekom tretmana plazmom uslijed formiranja kemijskih spojeva, kao što je vodikov peroksid, koji doprinosi kiselosti tekućina. Do promjene u kiselosti sokova može doći zbog topljenja hidroksilnog radikala koji nastaje tijekom obrade hladnom plazmom. Također, do promjene vrijednosti pH može doći uslijed formiranja nitratne i nitritne kiseline, kao i, već spomenutog vodikovog peroksida (Ozen i Singh, 2020).

Povećanjem vremena obrade hladnom plazmom dolazi do promjene boje zbog, u nekim slučajevima, degradacije askorbinske kiseline u voćnim sokovima.

Okus je također važan čimbenik kvalitete sokova, te se vrlo lako promijeni tijekom procesiranja i skladištenja.

Ugljikohidrati su važni u definiranju i održavanju kvalitete različitih proizvoda. Rodriguez i sur. (2017) u svom istraživanju potvrđuju da u kašastom soku jabuke tijekom obrade hladnom plazmom dolazi do degradacije svih reducirajućih šećera, kao što su fruktoza i glukoza. Zabilježen

je i porast udjela saharoze nakon dužeg izlaganja plazmi, što se pripisuje degradaciji oligosaharida s višim stupnjem polimerizacije. Smanjenje udjela fruktoze, povećanje udjela saharoze i degradacija oligosaharida s višim stupnjem polimerizacije zabilježeno je u probiotičkom soku od naranče nakon obrade hladnom plazmom (Almeida i sur., 2015).

Količina fenola u proizvodima podliježe promjeni tijekom obrade hladnom plazmom. Smanjenje ukupnih fenola zabilježeno je kod primjene plazme u soku od naranče i soku od bijelog grožđa (Almeida i sur., 2015; Pankaj i sur., 2017).

Više studija potvrđuju smanjenje antioksidativne aktivnosti nakon obrade hladnom plazmom u minimalno procesiranim jabukama, kao i nekim vrstama sokova (Rodriguez i sur., 2017; Pankaj i sur., 2017; Ramazzina i sur., 2016). Na temelju rezultata istraživanja može se zaključiti kako vrsta proizvoda, izvor plazme, način provođenja i uvjeti obrade predstavljaju ključne čimbenike kada je u pitanju utjecaj na antioksidativnu aktivnost proizvoda (Pankaj i sur., 2018).

Postoje oprečna istraživanja koja se odnose na gubitak bioaktivnih komponenti u sokovima nakon obrade hladnom plazmom. Što se tiče vitamina u procesiranim sokovima, najviše je istražen utjecaj hladne plazme na sadržaj vitamina C. Xu i sur. (2017) i Rodrigues i sur. (2017) utvrdili su sniženje sadržaja askorbinske kiseline u sokovima naranče, odnosno cashew jabuke nakon obrade plazmom (Pankaj i sur., 2018). Gubitak vitamina C je promjenjiv, ovisno o uvjetima procesiranja. Općenito, količina vitamina C u soku koristi se kao indikator kvalitete, kao kriterij za druge nutritivne komponente (Barba i sur., 2012; Pankaj i sur., 2018).

## 2.5. Utjecaj hladne plazme na mikroorganizme

Netermičko procesiranje je alternativa termičkom procesiranju kako bi se minimizirao gubitak nutritivne i senzorske kvalitete hrane, pri čemu se postiže minimalna  $5 \log_{10}$  redukcija ukupnog broja bakterija (Yu, 2020.). Mnogobrojnim istraživanjima (Shi i sur., 2011; Liao i sur., 2017; Ma i Lan, 2015) dokazana je učinkovitost hladne plazme u suzbijanju mikroorganizama kako u krutoj, tako i u tekućoj hrani. Hladna plazma se može generirati na različite načine, a primjena je usmjerena na inaktivaciju bakterija, spora, parazita, faga, virusa i stanica raka. Najviše se koristi u površinskoj sterilizaciji ambalaže i proizvoda, dekontaminaciji hrane, dermatologiji i stomatologiji (Mai-Prochnow, 2014).

Reaktivni dijelovi plazme su povezani s direktnim oksidativnim učinkom na vanjskom dijelu stanice mikroorganizama. Primjena plazme u inaktivaciji mikroorganizama bazirana se na djelovanju reaktivnih dijelova, kao što su reaktivni kisik, reaktivni dušik, UV zračenje, nabijene čestice i elektroni, koji u plazmi oštećuju staničnu stjenku i membranu deoksiribonukleinske kiseline (DNK) u kromosomima i ribonukleinske kiseline (RNK), te dolazi do oslobađanja citoplazme (Thirumdas i sur., 2014; Yu, 2020). Također, reaktivne čestice mogu uzrokovati denaturaciju proteina i peroksidaciju lipida (Yu, 2020). Oksidacija amino kiselina i nukleinskih kiselina može također uzrokovati promjene koje djeluju mikrobicidno (Misra i sur., 2011). Reaktivni kisik je vrlo učinkovit u uništavanju *Bacillus subtilis* i deaktivaciji spora *Bacillus* vrsta (Yu, 2020).

Nabijene čestice su zaslužne za uništavanje vanjske membrane bakterijskih stanica uslijed akumulacije njihovog naboja na vanjskoj površini stanične membrane. Kada elektrostatska sila preraste vlačnu čvrstoću membrane, dolazi do puknuća membrane. Gram negativne bakterije imaju tanju staničnu membranu, pa su nabijene čestice učinkovitije u inaktivaciji gram negativnih bakterija nego gram pozitivnih bakterija (Yu, 2020).

*Salmonella enterica* i *Escherichia coli* O157:H7 su bakterije koje se mogu prenositi hranom te kontaminirati različite proizvode kao što su jaja, povrće, voće, perad, mliječne proizvode i drugu procesiranu hranu.

Nekoliko je razloga zašto voćni sokovi mogu biti kontaminirani *Salmonellama* i *E. coli*. Voće može biti špricano kontaminiranom vodom i na neodgovarajući način oprano prije proizvodnje soka. Osim toga, voće ili voćni sokovi mogu biti nepropisno skladišteni. Montenegro i sur. (2002) upotrijebili su pulsirajuće korona pražnjenje za stvaranje hladne plazme kojom su obradili sok od jabuke. U samo 40 s postignuta je redukcija *E. coli* O157: H7 u iznosu višem od  $5 \log_{10}$  (CFU)/mL.



Kvasci su eukarioti koji mogu vrlo lako rasti i razmnožavati se u termički neobrađenim voćnim sokovima. Osjetljivost eukariotskih stanica na obradu plazmom općenito je niža u usporedbi s bakterijama. U sokovima uzrokuju promjenu boje, mirisa i izgleda proizvoda, te mogu uzrokovati bolesti. Mogućnost inaktivacije kvasaca hladnom plazmom je od velike važnosti za voćne sokove (Yu, 2020).

Obrada hladnom plazmom uzrokuje različite „stresove“ u stanicama kvasaca, koji su u biti posljedica prisutnosti reaktivnih čestica (reaktivni kisik i dušik). Posljedice nastale nakon obrade plazmom doprinose uništenju stanica kvasaca. Učinkovitost odumiranja stanica ovisi o načinu primjene plazme na stanice. Jedan način podrazumijeva direktnu primjenu plazme na stanice, odnosno stanice kvasca su direktno izložene istjecanju plazme. Drugi način je indirektan, a uključuje inkubaciju stanica kvasca u tekući medij koji je bio tretiran plazmom. Kao što je i za očekivati, učinkovitije je uništavanje stanica kvasca direktnim načinom. Velike su šanse za oštećenjem unutarstanične membrane kvasca tijekom obrade plazmom.

Drugi aspekt obrade plazmom koji još nije u potpunosti objašnjen je doprinos reaktivnih čestica u nastanku štete na stanicama. U istraživanjima se koriste „sakupljači“ reaktivnih čestica i sojevi kvasaca s deficitarnim udjelom enzima. Primjena navedenih ili sličnih pristupa mogli bi dati kompleksniju sliku o tome kako kemijske komponente plazme oštete stanice, te koji se dijelovi stanice aktiviraju kao odgovor na štetu (Polčić i Machala, 2021).

Kvasci i plijesni čine značajan udio mikroflore borovnica. U istraživanju Lacombe i sur. (2015) borovnice su obrađene hladnom plazmom 15, 30, 45, 90 ili 120 sekundi, a mikrobna populacija je praćena na dan obrade, te nakon jednog, dva i sedam dana skladištenja. U spomenutom istraživanju, za razliku od bakterija, tretman plazmom nije se pokazao uspješnim u smanjenju ukupnog broja kvasaca i plijesni. Već dan nakon obrade uočen je porast plijesni i kvasaca, dok je drugi dan nakon obrade porast još značajniji.

Shi i sur. (2011) istraživali su utjecaj hladne plazme sa sumporovim heksafluoridom na fungalnu populaciju prisutnu na površini lješnjaka, kikirikija i pistacija. U vremenskom razdoblju obrade od 10 minuta uočeno je  $5 \log_{10}$  smanjenje populacije.

### **3. EKSPERIMENTALNI DIO**

### 3.1. Zadatak rada

1. Odrediti pomološka i fizikalno-kemijska svojstva šipka
2. Definirati recepturu za pripremu kašastog soka šipka
3. Istražiti utjecaj obrade visokonaponskim pražnjenjem (HVED) pri frekvencijama od 50 Hz i 100 Hz kroz različito vrijeme (10, 15, 20 minuta) na fizikalno-kemijska svojstva soka šipka
4. Provesti preliminarnu mikrobiološku analizu obrađenog soka
5. Odabrati uvjete procesiranja (uz kombinaciju s prethodnom termičkom predobradom mikrovalovima u cilju eventualnog povećanja mikrobiološke stabilnosti soka šipka)
6. Ispitati fizikalno-kemijska svojstva soka i usporediti rezultate s neobrađenim i pasteriziranim sokom šipka. Ispitivanje mikrobiološke kvalitete neobrađenog i obrađenih uzoraka soka provesti neposredno nakon obrade, te tijekom 6 i 12 dana skladištenja pri 4 °C

### 3.2. Materijali

Ispitivanja su provedena sa šipkom (*Rosa canina laxa*) ubranim u okolici Nove Gradiške. Uzorci su neposredno nakon branja smrznuti i do analiza skladišteni pri -18°C.

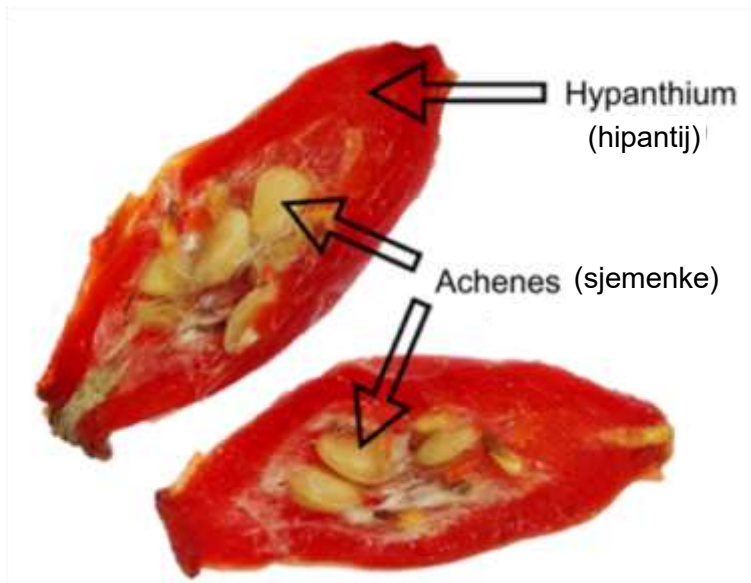
Sve kemikalije korištene za fizikalno-kemijske analize su od proizvođača Kemika (Hrvatska), osim 2,6-diklorfenol indofenola (Riedel-de Haën) i metafosforne kiseline (Sigma - Aldrich Njemačka).

Za pojedine mikrobiološke analize su korišteni:

- aerobne mezofilne bakterije (Tryptic glucose yeast agar, Biolife) - hranjivi agar ili PCA
- *Enterobacteriaceae* - VRBG (Violet red bile glucose agar, Biolife)
- *Salmonella* spp. (Buffered peptone water, Biolife); Rappaport Vassiliadis (RV) broth (Biolife); MKTTn (Muller-Kauffman Tetrathionate Novobiocin broth, Merck); XLD (Xylose Lysine Deoxycholate) agar ISO Form (Biolife); CSA (Chromogenic Salmonella Agar Base (Biolife)
- *Escherichia coli* - TBX (Tryptone Bile X-Glucoronide Agar, Biolife)
- *Listeria monocytogenes* FR ½ (Listeria Fraser Broth Base Half Concentration, Biolife); FR cijeli (Listeria fraser broth base, Biolife); ALOA (Agar Listeria Ottaviani Agosti, Biolife, Italija)
- kvasci i plijesni - DRBC (Dichloran-Rose Bengal Chlotramphenicol Agar, Merck, Njemačka)

### 3.3. Priprema uzoraka

Plodovi šipka su oprani i posušeni ubrusima. Nakon odvajanja otpada (dijelovi stapke, ostaci čaške), plodovi su uzdužno prerezani i izvađene su sjemenke (**Slika 6**).



**Slika 6** Uzdužni presjek ploda šipka (hipantij i sjemenke s dlačicama)

Sjemenkama je izmjerena boja nakon čišćenja od ostataka mesnatog dijela. Mesnato usplode šipka je, prije fizikalno-kemijske analize, usitnjeno štapnim mikserom. Pasiranje je provedeno strojno, uz dodatak vode (1:1).

Svi sokovi pripremljeni su od svježe pasirane kaše šipka i sadržavali su min. 40% kaše (u skladu s Pravilnikom o voćnim sokovima i njima srodnim proizvodima namijenjenim za konzumaciju, NN 48/2013). Neobrađeni uzorak soka pripremljen je sa saharozom (7,5%), uz dodatak pasirane kaše šipka i limunske kiseline (0,15%). Destilirana voda korištena za pripravu sokova i šećer su mikrobiološki ispitani prije korištenja. Nakon pripreme sokova, refraktometrijskim mjerenjem je provjerena topljiva suha tvar (12,5-13% suhe tvari). Uzorak NP je obrađen plazmom neposredno nakon pripremljanja soka. Uzorak NPA je neposredno nakon pripreme pasteriziran 20 minuta pri 85 °C.

S obzirom da su preliminarne mikrobiološke analize u soku obrađenom HVED pokazale nesukladnost s preporučenim kriterijima Vodiča za mikrobiološke kriterije za hranu (MP, 3. izmijenjeno izdanje, ožujak 2011.), odabrani su uvjeti procesiranja koji podrazumijevaju

kombinaciju s prethodnom termičkom predobradom (blanširanjem) u cilju eventualnog povećanja mikrobiološke stabilnosti soka šipka.

Dio kaše (u ciklusima po 100g) je blanširan mikrovalovima u trajanju od 45 sekundi pri 700W (Daewoo, KOR-63A5) prije (za pripremu uzorka NBP 1) i poslije pasiranja (za pripremu uzorka NBP 2).

### 3.4. Metode

U radu su determinirana sljedeća pomološka svojstva ploda šipka: duljina, širina, promjer, masa, te broj sjemenki u plodu.

Metode koje su korištene za određivanje fizikalno-kemijskog sastava su:

- Određivanje ukupne suhe tvari (sušenjem u vakuum sušioniku pri 60 °C) i topljive suhe tvari (refraktometrijski)
- Određivanje šećera (prirodnih i ukupnih) metodom po Luff-Schoorlu
- Određivanje askorbinske kiseline (titracijom s 2,6-diklorfenolindofenolom)
- Mjerenje električne vodljivosti konduktometrom (Hanna Edge, Hanna Instruments)
- Mjerenje pH vrijednosti pomoću pH metra (Mettler-Toledo)
- Određivanje ukupnih fenola spektrofotometrijski (modificiranom Folin-Ciocalteu-ovom metodom)

Ekstrakcija uzoraka provedena je u smjesi vode i etanola (80:20) pri 20 °C tijekom 15 minuta, u ultrazvučnoj kupelji (DT 52 H, Bandelin, Njemačka). Nakon filtracije dobiveni ekstrakti su korišteni za određivanje ukupnih fenola (standard-galna kiselina).

#### *HVED obrada*

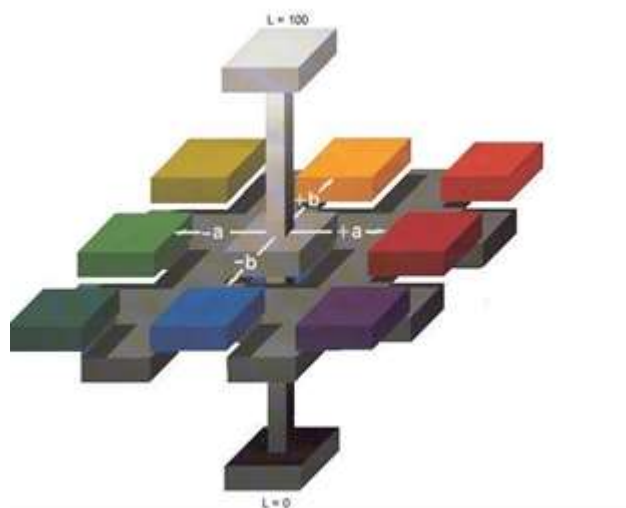
Svaki uzorak soka podvrgnut obradom u uređaju za generiranje plazme sadržavao je 300 mL. Obrada je provedena visokonaponskim električnim pražnjenjem (30 kV), pri dvije različite frekvencije pražnjenja - 50 Hz i 100 Hz i tri vremenska intervala obrade (10, 15 i 20 minuta), uz miješanje na magnetskoj miješalici. U komori za obradu (**Slika 7**) smještena je igla od nehrđajućeg čelika (promjera 2,5 mm) i elektroda za uzemljenje u obliku okrugle ploče (promjera 45 mm). Tijekom obrade razmak između elektroda iznosio je 20 mm.



**Slika 7** Uređaj za generiranje plazme (SFE Systems Ltd.)

*Mjerenje boje pomoću kolorimetra*

Mjerenje boje uzoraka soka provedeno je u staklenoj kiveti smještenoj u nastavku za mjerenje tekućina (CR-A70), pomoću kromametra Minolta CR-300 (Chroma Meter, Japan). Mjerna glava ovog kromametra koristi difuzno osvjjetljenje pri  $0^\circ$ . Pulsirajuća ksenonska lampna PXA unutar prostora, promjera 8 mm, omogućuje ujednačeno difuzno osvjjetljenje uzorka. Svjetlost koja se odbija okomito od površine uzorka se skuplja u šest silikonskih fotoćelija. Računalo zapisuje podatke u pet sustava: X,Y,Z; Yxy; Lab; Hunter Lab i LCh. U radu su korišteni sustavi  $L^*a^*b^*$  (Slika 8) i  $L^*C^*h^*$ .



**Slika 8** Prikaz načina očitavanja boje u  $L^*a^*b^*$  sustavu (WEB 1)

„L“ vrijednost određuje je li nešto svijetlo ili tamno. Ako iznosi 0, tada je predmet koji se promatra crne boje, a ako L vrijednost iznosi 100 onda je bijele boje.

„a“ vrijednost može biti pozitivna ili negativna. Ako je pozitivna, tada je rezultat mjerenja crvena boja, a ako je negativna onda je rezultat zelena boja.

„b“ vrijednost također može biti pozitivna ili negativna. U prvom slučaju rezultat mjerenja je žuta boja, a u drugom je plava boja.

LCh sustav ima isti „L“ parametar „lightness“ kao i „L“ u Lab sustavu. „C“ parametar ili „chroma“ predstavlja intenzitet boje, pri čemu pozitivna vrijednost parametra „C“ označava neutralnu boju, a negativna vrijednost parametra „C“ označava potpuno zasićenu boju. „h°“ parametar označava nijansu boje „hue“, odnosno kut „hue angle“ promjene boje u odnosu na „a“ parametar, sa vrijednostima od 0 do 360°. Kada je vrijednost parametra „h°“ 0°, boja je crveno-purpurna, 90° je žuta nijansa, 180° je zelena, a 270° plava.

Na temelju izmjerenih „L“, „a“ i „b“ vrijednosti obavljen je izračun učinka obrade plazmom, izraženih kao ukupna promjene boje ( $\Delta E$ ), prema izrazu [18]:

$$\Delta E = \sqrt{\Delta L^2 + \Delta a^2 + \Delta b^2} \quad [18]$$

**Tablica 4** Veza između izračunate promjene boje ( $\Delta E$ ) i ljudske percepcije boje

$\Delta E$	Vidljivost razlike ljudskim okom
< 0,2	Nije vidljiva razlika
0,2 – 1	Vrlo mala vidljivost razlike
1 – 3	Mala vidljivost razlike
3 – 6	Prosječna vidljivost razlike
> 6	Velika vidljivost razlike

Utjecaj uvjeta (frekvencija pražnjenja) i vremena obrade na parametre boje ( $L^*$  i  $a^*$ ) obrađen je statistički u dvosmjernoj analizi varijance ( $p < 0,05$ ; ANOVA, Excel).

## Mikrobiološke metode

Mikrobiološke analize kojima se utvrđuje sukladnost uzoraka prema važećim mikrobiološkim kriterijima obuhvatile su: aerobne mezofilne bakterije, *Enterobacteriaceae*, *Salmonella* spp., *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes*, te kvasce i plijesni (Vodič za mikrobiološke kriterije za hranu, 2011.).

U radu su korištene sljedeće metode:

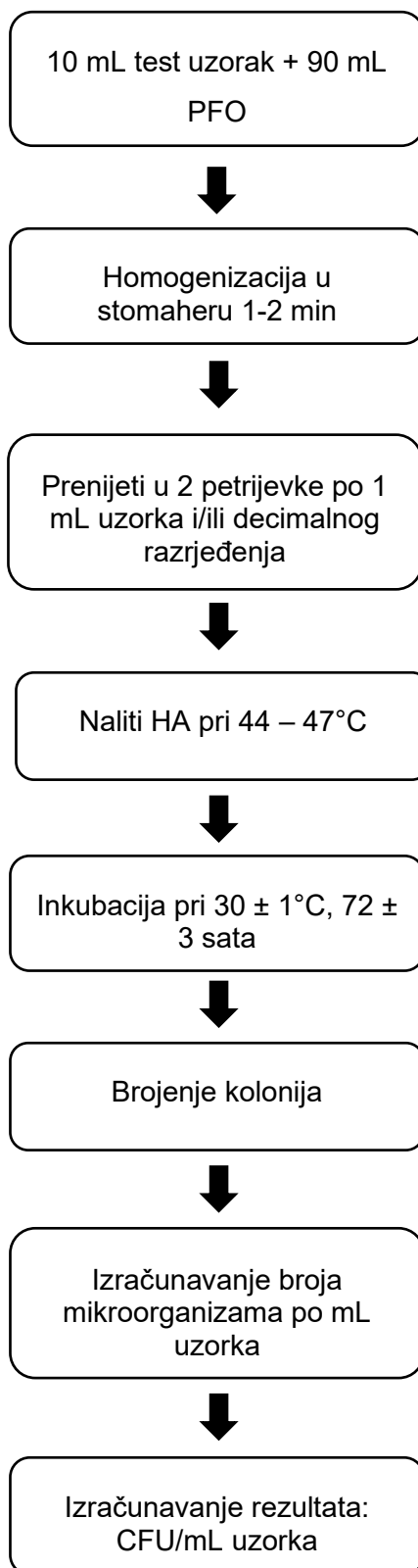
- Aerobne mezofilne bakterije \*HRN EN ISO 4833-1:2013
- *Enterobacteriaceae* \*HRN EN ISO 21528-2:2017
- *Escherichia coli* \*HRN ISO 16649-2:2001
- *Salmonella* spp. \*HRN EN ISO 6579-1:2017/A1:2020
- *Listeria monocytogenes* \*HRN EN ISO 11290-1:2017
- Kvasci i plijesni \*HRN ISO 21527-2:2012

Sve analize su provedene u dvije paralele, osim mjerenja boje i određivanja ukupnih fenola (tri paralele).



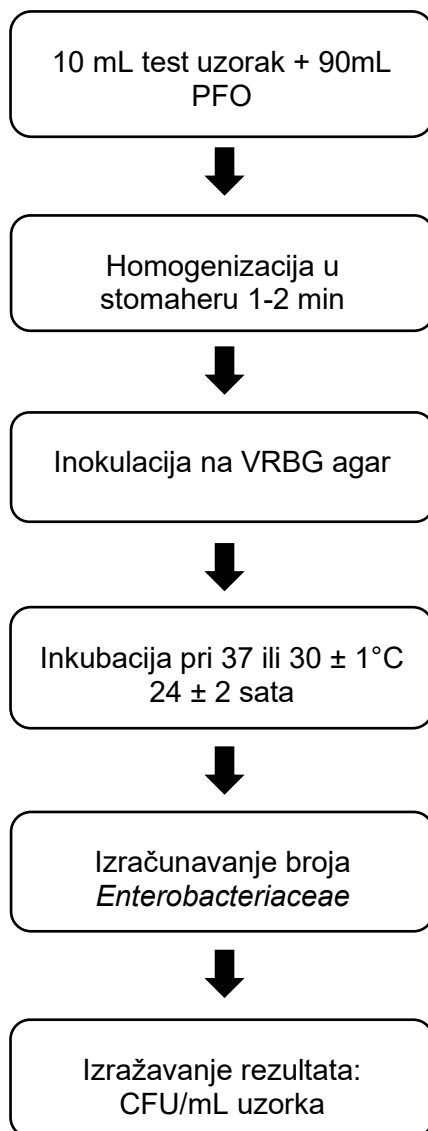
Horizontalna metoda za brojenje mikroorganizama – Tehnika brojenja kolonija na 30°C

Dijagram postupka



Horizontalna metoda za dokazivanje prisutnosti i brojenje *Enterobacteriaceae* – Metoda određivanja broja kolonija

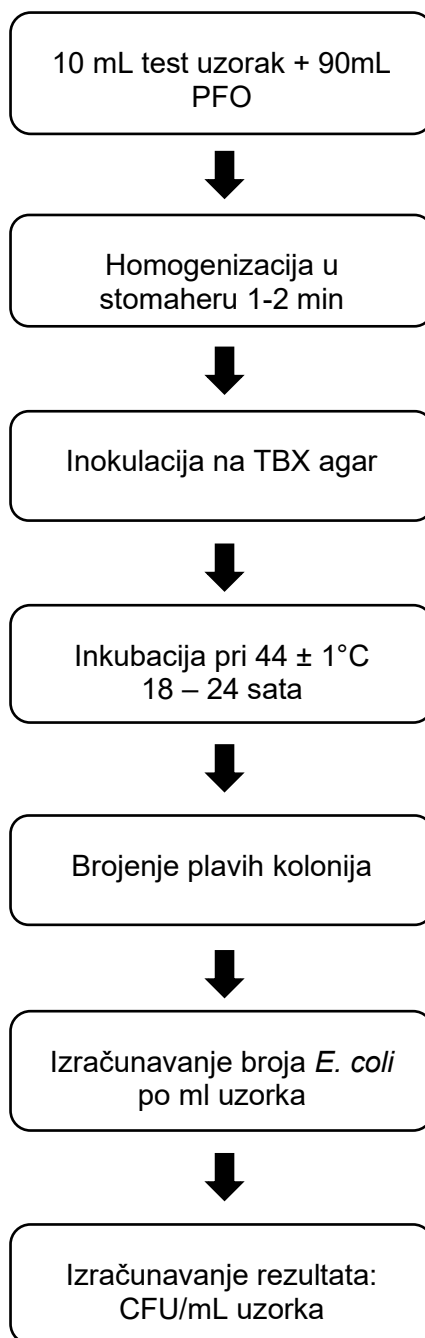
Dijagram postupka



Metoda brojenja  $\beta$ -glucuronidasa pozitivne *Escherichia coli*

Brojenje kolonija pri 44°C uporabom 5-bromo-4-chloro-3-indolyl beta -D-glucuronide

Dijagram postupka



Metoda za dokazivanje prisutnosti *Salmonella* spp.

U sterilnu vrećicu sa sterilnom pipetom u aseptičnim uvjetima izmjereno je 25 mL uzorka soka od šipka i dodano 225 mL puferirane peptonske vode (PPV) prethodno zagrijane na sobnu temperaturu.

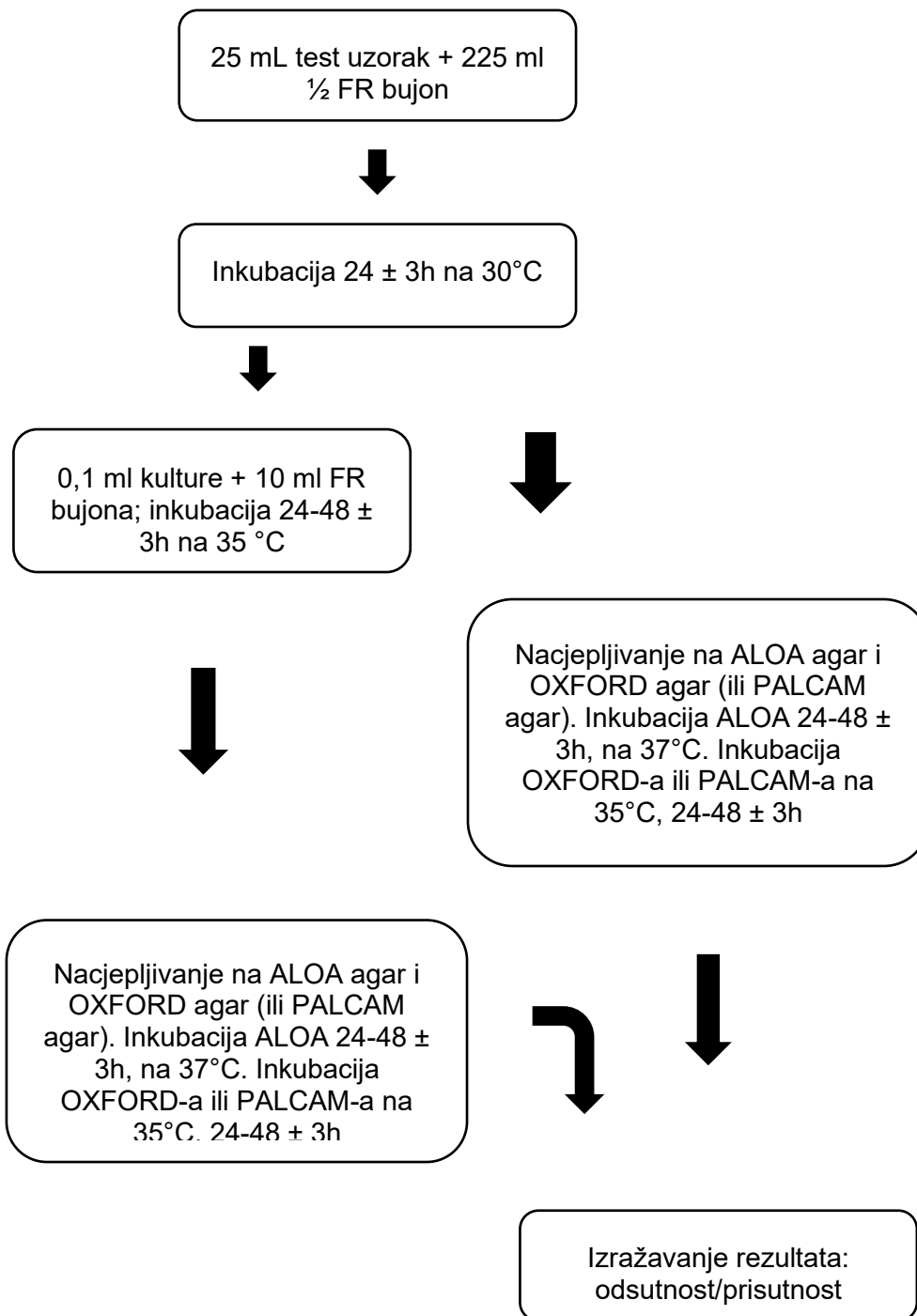
Bujon i uzorak inkubiran je 18 ( $\pm$  2) sata na 37 °C. Nakon inkubacije bujon s uzorkom precijepljen je u selektivne bujone i to na način da je 0,1 mL bujona dodano u 10 mL RVS bujona i 1 mL bujona u 10 mL MKTT bujona.

Selektivni bujon MKTT inkubiran je 24 ( $\pm$  3) sata na 37 °C, a selektivni bujon RVS na 41,5 °C (u istom vremenu). Nakon inkubacije selektivni bujoni su precijepljeni na krute selektivne podloge uz pomoć mikrobiološke ušice i to na način da su oba bujona (MKTT i RVS) naciijepljena i na XLD i CSA (krute selektivne podloge).

Krute selektivne podloge su inkubirane 24 ( $\pm$  3) sata na 37 °C. Nakon inkubacije pregledane su ploče da li je prisutan porast.

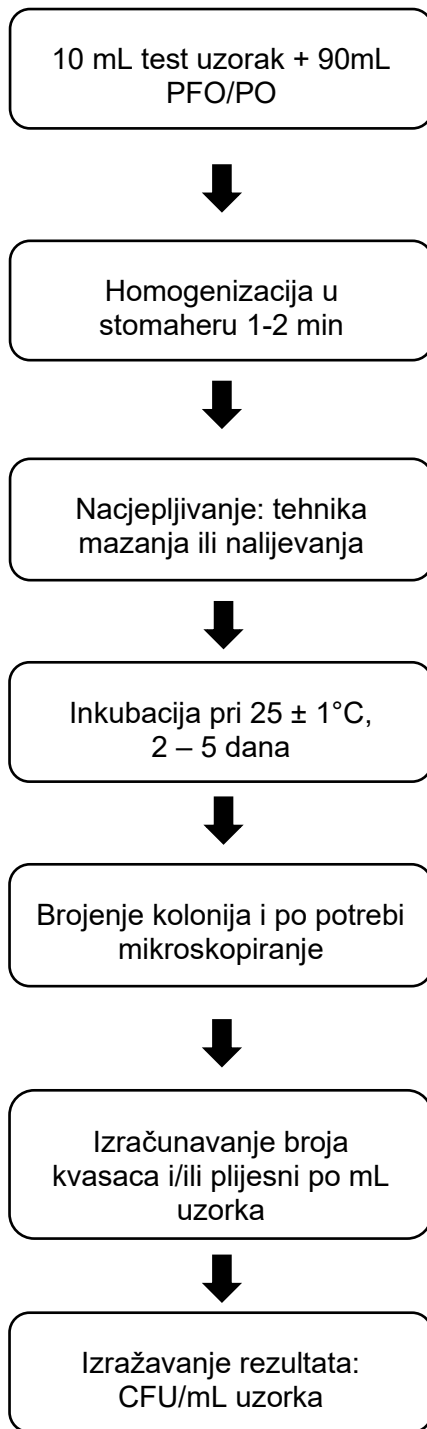
Horizontalna metoda za dokazivanje *Listeria monocytogenes*

Dijagram postupka



Horizontalna metoda za brojenje kvasaca i plijesni – Tehnika brojenja kolonija u proizvodima s aktivitetom vode većim od 0,95

Dijagram postupka



## **4. REZULTATI I RASPRAVA**

#### 4.1. Rezultati fizikalno-kemijskih analiza u sokovima šipka

Cilj rada je ispitati utjecaj visokonaponskog električnog pražnjenja (HVED obrade) na fizikalno-kemijska svojstva i mikrobiološku kvalitetu kašastog soka šipka (*Rosa canina laxa*).

U radu su najprije ispitana pomološka svojstva šipka, te je provedeno mjerenje boje pokožice (ljuske), mesnatog dijela ploda i sjemenki ploda.

Plod šipka (*Rosa canina laxa*) je jajolik, što ga razlikuje od ostalih vrsta (*Rosa dumalis*, *Rosa rubiginosa*) koje imaju okrugle plodove.

**Tablica 5** Pomološka svojstva ploda šipka i neki parametri kemijskog sastava pulpe

Parametar	Srednja vrijednost $\pm$ SD
	<i>Plod</i>
Dužina ploda (mm)	21,7 $\pm$ 1,44
Širina ploda (mm)	10,4 $\pm$ 1,16
Masa ploda (g)	1,7 $\pm$ 0,62
Broj sjemenki u plodu	19 $\pm$ 1,22
	<i>Pulpa</i>
Ukupna suha tvar (%)	31,48 $\pm$ 0,35
Topljiva suha tvar (%)	28,17 $\pm$ 0,40
pH	3,5 $\pm$ 0,02
Ukupne kiseline-izražene kao limunska (%)	3,14 $\pm$ 0,04
Askorbinska kiselina (mg/100g)	500,74 $\pm$ 13,60
Pektinske tvari (%)	11,79 $\pm$ 2,13
Ukupni i (reducirajući) šećeri (%)	6,36 $\pm$ 0,27 (6,25 $\pm$ 0,00)
Fenolne tvari (g/100g)	1,242 $\pm$ 0,006

**Tablica 6** Parametri boje šipka mjereni pomoću kolorimetra

Uzorak	L	a	b	C	h°
Sjemenke	42,41 $\pm$ 0,70	10,32 $\pm$ 0,17	25,56 $\pm$ 0,50	27,70 $\pm$ 0,36	68,10 $\pm$ 0,10
Ljuska	28,79 $\pm$ 0,06	20,97 $\pm$ 0,15	17,52 $\pm$ 0,11	27,21 $\pm$ 0,20	39,60 $\pm$ 0,30
Pulpa	30,02 $\pm$ 0,11	23,70 $\pm$ 0,20	24,72 $\pm$ 0,51	34,17 $\pm$ 0,17	46,50 $\pm$ 0,50



Rezultati prikazani u **Tablici 5 i 6** su pokazali sličnost s literaturnim podacima za šipak, kao i ranijim rezultatima (Stanić, 2017; Brkić, 2020).

Vrijednost  $h$  označava nijansu boje „*hue*“, odnosno kut „*hue angle*“,  $h^\circ$  promjene boje u odnosu na „ $a$ “ parametar. Izmjerene vrijednosti  $h^\circ$  parametra za ljusku (pokožicu) ploda iznosile su oko  $40^\circ$ , a za pulpu (koja je pripravljena od mesnatog dijela ploda)  $46,50$ , što predstavlja prijelaz od crvene ( $0^\circ$ ) prema žutoj nijansi ( $90^\circ$ ).

Vrijednosti fizikalno-kemijskih parametara prikazanih u **Tablici 5** nalaze se u granicama literaturnih podataka. Iznimka je sadržaj šećera koji se odnosi na reducirajuće šećere (u nekim referencama sadržaj reducirajućih šećera se može kretati i do 14%), sa sadržajem saharoze i do 2% (Niketić-Aleksić i sur., 1988, Yoruk i sur., 2008). Sadržaj kiselina u literaturi kreće se od 1 do 3,2% (Yildiz i Alpaslan, 2012), pa je prema tome rezultat za sadržaj kiselina u pulpi šipka izražen kao limunska kiselina bio dosta visok (3,14%).

Rezultati Stanića (2017) pokazuju kako je u plodovima šipka iz različitog načina uzgoja količina vitamina C u rasponu od 79,26 (plodovi samoniklih genotipova) do 341,92 mg/100 g svježeg šipka (plodovi iz konvencionalnog uzgoja). Prema Demir i Ozcan (2001) plod šipka može imati sadržaj vitamina C i do 1700 mg/100 g svježeg šipka, dok je prema istraživanju Kazankaya i sur. (2005) raspon iznosio od 301 do 1183 mg/100 g šipka. U istraživanju Jablanska-Rys i sur. (2009) udio askorbinske kiseline, koja je sastavni dio vitamina C, iznosio je 1252 mg/100 g svježe pulpe, a rezultat Rosu i sur. (2011) iznosio je 643 mg/100g svježeg šipka (Stanić, 2017).

Razlike u sadržaju askorbinske kiseline, odnosno vitamina C u ovim proizlaze iz različitih uvjeta uzgoja, nadmorske visine, sorte, ekoloških čimbenika i vremena berbe šipka. Smanjenje udjela također može biti rezultat razine kisika u okolišu, količine svjetla koja dopire do biljaka, ali i promjena endogenih regulatora rasta biljaka i temperature.

U ovom istraživanju, sadržaj askorbinske kiseline u pulpi šipka iznosio je 500,74 mg/100 g, što svakako odgovara literaturnim vrijednostima.

Polifenoli su važni biljni sastojci s pozitivnim biološkim djelovanjem, među kojima je antioksidativna aktivnost najistaknutija. Koncentracija fenolnih tvari u pulpi šipka iznosila je 1242 mg/100 g. Po rezultatima Stanića (2017), najveća koncentracija ukupnih fenola utvrđena je kod ekološki uzgojenih plodova (1310,79 mg GAE/100 g), nešto niža kod plodova samoniklih genotipova (1210,19 mg GAE/100 g), a najniža koncentracija utvrđena je kod plodova iz konvencionalnog uzgoja (1109,62 mg GAE/100 g). Yoo i sur. (2008) su zabilježili ukupne fenole u količini od 818 mg GAE/100g svježeg šipka (Roman i sur., 2013).

Sadržaj polifenolnih spojeva u istraživanju Roman i sur. (2013) kretao se od 575 mg/100 g (var. *transitoria* f. *ramosissima*) do 326 mg/100 g smrznute pulpe šipka (var. *lutetiana* f. *fallens*).

**U Tablicama 7 i 8** prikazani su rezultati fizikalno-kemijskih parametara i promjene boje u uzorcima soka šipka obrađenog plazmom.

**Tablica 7** Fizikalno-kemijski parametri u uzorcima soka od šipka nakon obrade plazmom (50 Hz i 100 Hz) u trajanju od 10, 15 i 20 minuta

Uzorak/ obrada	pH	Askorbinska kiselina (mg 100g <sup>-1</sup> )	Fenolne tvari (g 100g <sup>-1</sup> )	Električna vodljivost (μS cm <sup>-1</sup> )
Neobrađeni uzorak	3,7 ± 0,02	97,60 ± 0,75	0,212 ± 0,006	2223 ± 2,33
<b>P 50 (10)</b>	3,6 ± 0,02	104,11 ± 0,78	0,234 ± 0,002	2256 ± 22,56
<b>P 50 (15)</b>	3,6 ± 0,01	100,41 ± 1,83	0,187 ± 0,001	2427 ± 6,36
<b>P 50 (20)</b>	3,6 ± 0,01	106,51 ± 2,09	0,278 ± 0,005	2506 ± 4,95
<b>P 100 (10)</b>	3,5 ± 0,02	105,03 ± 2,09	0,237 ± 0,002	2513 ± 14,85
<b>P 100 (15)</b>	3,5 ± 0,02	99,48 ± 2,62	0,217 ± 0,005	2550 ± 2,83
<b>P 100 (20)</b>	3,5 ± 0,01	113,72 ± 1,83	0,236 ± 0,002	2605 ± 26,87

Obrada visokonaponskim pražnjenjem kojom je generirana plazma uzrokovao je mali pad pH vrijednosti (s 3,7 na 3,6, odnosno 3,5 kod obrada provedenih pri 100 Hz) i rast električne vodljivosti u svim uzorcima soka (**Tablica 7**). Visokonaponsko pražnjenje uzrokuje porast električne vodljivosti zbog nastanka brojnih nabijenih čestica (pozitivno i negativno nabijeni ioni). Grymonpré i sur. (2001) pojašnjavaju kako više vrijednosti električne vodljivosti rezultiraju manjim nastankom reaktivnih kemijskih vrsta, što u konačnici, ima za posljedicu slabiji utjecaj na kvalitetu soka. Dasan i Boyaci (2018) nisu zabilježili, značajnije promjene pH vrijednosti u sokovima jabuke, naranče, višnje i rajčice nakon obrade plazmom. U istraživanjima provedenim u soku bijelog grejpa Pankaj i sur. (2017) nisu zabilježili značajne promjene u pH vrijednosti i električnoj vodljivosti nakon obrade visokonaponskim pražnjenjem, kao niti nakon obrade soka jabuke.

Obrada plazmom pozitivno je utjecala na stabilnost fenolnih spojeva, pri čemu su vrijednosti ukupnih fenola porasle do 13% (**Tablica 7**). Dasan i Boyaci (2018) su u spomenutom istraživanju s različitim vrstama sokova također zabilježili porast koncentracije fenolnih spojeva od 10 do 15%,

u odnosu na neobrađeni sok. Porast koncentracije može se objasniti time da plazma pospešuje prijenos mase i oslobađanje fenolnih spojeva (Landbo i Meyer, 2001), jer uzrokuje djelomično ili potpuno pucanje biljne stanične membrane, što rezultira otpuštanjem unutarstaničnih komponenti u međustanični prostor (Kobzev i sur., 2013), te dolazi do bržeg ulaska tekućine u stanični materijal (Šeremet, 2018). Herceg i sur. (2016) istraživali su utjecaj plinske plazme na stabilnost fenolnih spojeva u soku od nara, te su zabilježili porast koncentracije elaginske, klorogenske i ferulinske kiseline, te katehina i punicijagina nakon obrade.

Šipak, kao i njegov sok bogat je izvor vitamina C, odnosno askorbinske i dehidroaskorbinske kiseline, što ga čini izvrsnim antioksidansom. Obrada visokonaponskim pražnjenjem nije uzrokovala degradaciju askorbinske kiseline, iako je najdulja obrada trajala 20 minuta. Pri tom nije došlo do značajnijeg povećanja temperature soka, što može biti razlogom stabilnosti i nakon obrade. Shi i sur. (2011) također nisu zabilježili značajnu degradaciju vitamina C u svježe iscijeđenom soku naranče nakon obrade plazmom. Međutim, u većini istraživanja sa sokovima voća došlo je do značajne degradacije askorbinske kiseline tijekom obrade plazmom (Wu i sur., 2020).

**Tablica 8** Parametri boje i izračun ukupne promjene boje ( $\Delta E$ ) u uzorcima nakon obrade plazmom (50 Hz i 100 Hz) u trajanju od 10, 15 i 20 minuta

<b>Uzorak/obrada</b>	<b>L</b>	<b>a</b>	<b>b</b>	<b>C</b>	<b>h°</b>	<b><math>\Delta E</math></b>
<b>Neobrađeni uzorak</b>	37,43 ± 0,32	10,93 ± 0,71	16,00 ± 0,64	19,22 ± 0,28	55,50 ± 0,40	-
<b>P 50 (10)</b>	34,02 ± 0,08	8,16 ± 0,03	11,95 ± 0,02	14,08 ± 0,12	55,30 ± 0,20	5,98
<b>P 50 (15)</b>	33,73 ± 0,12	8,00 ± 0,13	11,55 ± 0,29	14,45 ± 0,25	55,20 ± 0,10	6,49
<b>P 50 (20)</b>	34,13 ± 0,07	8,13 ± 0,16	12,06 ± 0,02	14,66 ± 0,04	56,00 ± 0,40	5,85
<b>P 100 (10)</b>	34,19 ± 0,08	8,21 ± 0,06	12,34 ± 0,03	14,74 ± 0,24	55,60 ± 0,10	5,59
<b>P 100 (15)</b>	34,21 ± 0,06	8,29 ± 0,06	12,27 ± 0,08	14,60 ± 0,06	56,30 ± 0,70	5,59
<b>P 100 (20)</b>	34,19 ± 0,05	8,25 ± 0,23	12,06 ± 0,26	14,85 ± 0,08	55,70 ± 0,20	5,76

U **Tablici 8** prikazani su izmjereni i izračunati parametri boje u neobrađenom i uzorcima obrađenim plazmom pri dvije frekvencije pražnjenja (50 Hz i 100 Hz) u trajanju od 10, 15 i 20 minuta.

Najsvjetliju boju soka šipka imao je neobrađeni uzorak (L vrijednost 37,43), a smanjenje vrijednosti L\*, a\*, b\* i C\* parametara uočeno je kod svih obrađenih uzoraka soka (u usporedbi s neobrađenim uzorkom). S obzirom na vezu između izračunate promjene boje ( $\Delta E$ ) i ljudske percepcije boje, izračunata ukupna promjena boje *velika* je kod uzorka obrađenog pri frekvenciji od 50 Hz tijekom 15 minuta, dok je *prosječna vidljivost* razlike (vrijednosti 3-6) zabilježena za ostale uzorke. Rezultati statističke analize (ANOVA) pokazuju da na promjenu parametra L\* značajan utjecaj imaju uvjeti obrade (frekvencija pražnjenja) i vrijeme obrade, a na promjenu parametra a\* samo uvjeti obrade ( $p < 0,05$ ; **Tablice 9 i 10**).

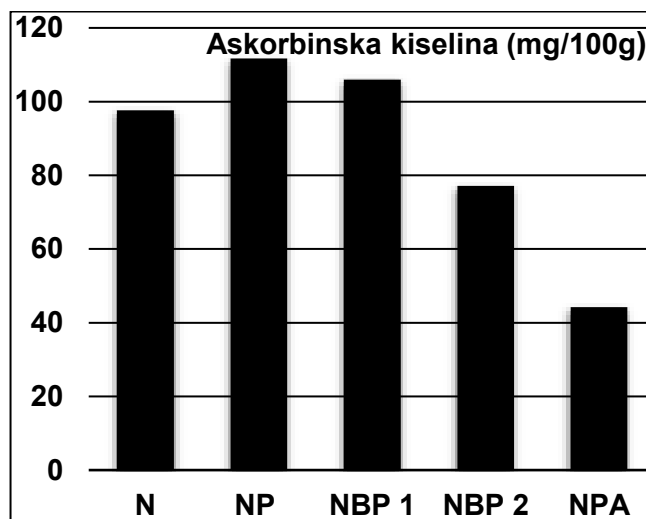
**Tablica 9** Analiza varijance za parametar boje L\*

Izvor varijacije	Suma kvadrata	Broj stupnjeva slobode	Srednja vrijednost odstupanja	F vrijednost	P vrijednost
<b>Obrada (O)</b>	0,254422	1	0,254422	4,747225	5,8E-05
<b>Vrijeme (V)</b>	0,121878	2	0,060939	3,885294	0,004523
<b>OV</b>	0,140544	2	0,070272	3,885294	0,002684
<b>Ukupna pogreška</b>	0,083533	12	0,006961		
<b>Ukupna korekcija</b>	0,600378	17			

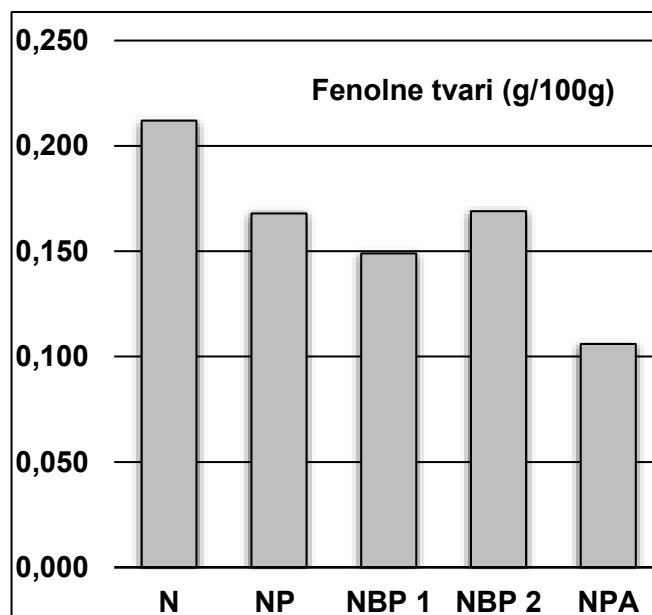
**Tablica 10** Analiza varijance za parametar boje a\*

Izvor varijacije	Suma kvadrata	Broj stupnjeva slobode	Srednja vrijednost odstupanja	F vrijednost	P vrijednost
<b>Obrada (O)</b>	0,102756	1	0,102756	4,747225	0,03441
<b>Vrijeme (V)</b>	0,008011	2	0,004006	3,885294	0,804252
<b>OV</b>	0,047811	2	0,023906	3,885294	0,302286
<b>Ukupna pogreška</b>	0,216667	12	0,018056		
<b>Ukupna korekcija</b>	0,375244	17			

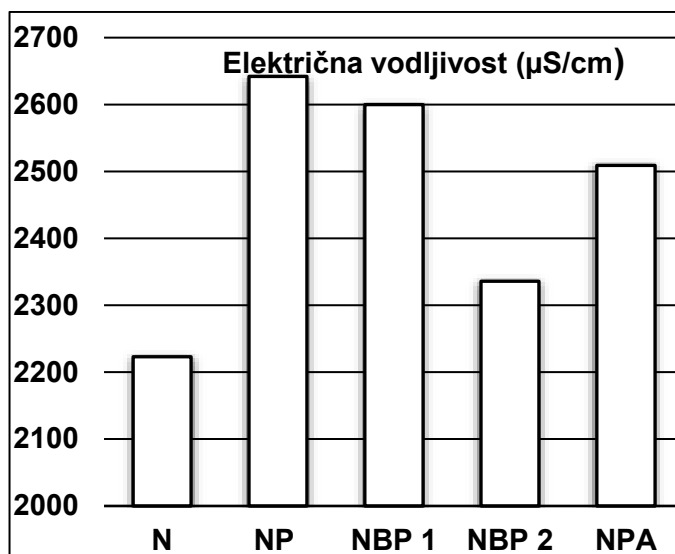
S obzirom da su preliminarnе mikrobiološke analize pokazale neučinkovitost HVED obrade - u smislu da je broj kvasaca i plijesni bio iznad preporučene granične vrijednosti, primijenjena je mikrovalna obrada kaše prije, odnosno poslije pasiranja. Za HVED obradu odabrani su uvjeti frekvencije pražnjenja od 100 Hz i vrijeme obrade 20 minuta. Također je u cilju usporedbe pripravljen pasterizirani sok, kako bi se komparirali rezultati fizikalno-kemijskih parametara i mikrobiološka stabilnost sokova.



Slika 9 Sadržaj askorbinske kiseline (mg/100g) u ispitivanim sokovima



Slika 10 Udio fenolnih tvari (g/100g) u ispitivanim sokovima



**Slika 11** Električna vodljivost ( $\mu\text{S}/\text{cm}$ ) u ispitivanim sokovima

N - neobrađeni uzorak  
 NP - obrađeni uzorak (HVED)  
 NBP 1 - obrađeni uzorak (blanširanje prije pasiranja + HVED)  
 NBP 2 - obrađeni uzorak (blanširanje kaše poslije pasiranja +HVED)  
 NPA - pasterizirani uzorak

Iz rezultata analize fizikalno-kemijskih parametara u odabranim uzorcima soka šipka (**Slike 9 - 11**) vidljiv je gubitak askorbinske kiseline u pasteriziranom soku od količini od 55%, kao i u soku pripremljenom od kaše blanširane poslije pasiranja (20%). Pasterizacija, blanširanje mikrovalovima i HVED obrada nisu uzrokovali značajne promjene u pH vrijednosti analiziranih uzoraka soka, izmjerena pH vrijednost svih sokova bila je 3,6, a neobrađenog soka 3,7. Sadržaj fenolnih tvari neznatno je smanjen u obrađenim uzorcima, a najveće smanjenje ukupnih fenola zabilježeno je u pasteriziranom soku ( $0,106 \text{ g } 100\text{g}^{-1}$ ). Razlog tomu vjerojatno je toplinska degradacija fenolnih spojeva. Primjena toplinske obrade može dovesti do disocijacije konjugiranih oblika fenolnih kiselina, kao što su galna, ferulinska i *p*-kumarna kiselina u slobodne fenolne kiseline, što se očituje smanjenjem sadržaja nakon zagrijavanja.

U **Tablici 11** prikazani su rezultati mjerenja boje sokova i izračun ukupne promjene boje u odnosu na neobrađeni sok. *Velika* promjena boje (vrijednosti veće od 6) zabilježena je kod pasteriziranog soka (NPA), *prosječna vidljivost razlike* (vrijednosti 3-6) zabilježena za uzorke NBP 1 i NP, dok je najmanja promjena boje zabilježena kod NBP 2, izražena kao *vrlo mala vidljivost razlike boje*.

**Tablica 11** Parametri boje i izračun ukupne promjene boje ( $\Delta E$ ) sokova

<b>Uzorak/obrada</b>	<b>L</b>	<b>a</b>	<b>b</b>	<b>C</b>	<b>h°</b>	<b><math>\Delta E</math></b>
<b>N</b>	36,23 ± 0,06	6,76 ± 0,16	14,67 ± 0,05	16,40 ± 0,61	65,30 ± 0,70	-
<b>NP</b>	33,85 ± 0,13	8,08 ± 0,05	12,24 ± 0,21	14,66 ± 0,19	56,40 ± 0,30	3,65
<b>NBP 1</b>	34,33 ± 0,03	8,11 ± 0,15	12,95 ± 0,29	15,14 ± 0,10	57,80 ± 0,10	2,90
<b>NBP 2</b>	36,33 ± 0,11	6,94 ± 0,23	14,64 ± 0,17	16,32 ± 0,13	64,20 ± 0,40	0,21
<b>NPA</b>	30,45 ± 0,01	2,77 ± 0,04	6,90 ± 0,07	7,52 ± 0,01	67,90 ± 0,60	10,47

N - neobrađeni uzorak

NP - obrađeni uzorak (HVED)

NBP 1 - obrađeni uzorak (blanširanje prije pasiranja + HVED)

NBP 2 - obrađeni uzorak (blanširanje kaše poslije pasiranja +HVED)

NPA - pasterizirani uzorak

## 4.2. Rezultati mikrobiološke analize sokova šipka

U Tablicama 12-14 prikazani su rezultati mikrobiološke analize sokova šipka.

**Tablica 12** Utjecaj obrade na mikrobiološku stabilnost (aerobne mezofilne bakterije - AMB i *Enterobacteriaceae* - EB) u uzorcima soka od šipka tijekom 12 dana skladištenja pri 4 °C (CFU/mL uzorka)

Uzorak/dan	AMB		Uzorak/dan	EB	
	Dopuštena vrijednost (CFU/mL)	Rezultat (CFU/mL)		Dopuštena vrijednost (CFU/mL)	Rezultat (CFU/mL)
<b>Dan „0“</b>			<b>Dan „0“</b>		
N	10 <sup>3</sup>	<10	N	10	<10
NP	10 <sup>3</sup>	<10	NP	10	<10
NBP 1	10 <sup>3</sup>	<10	NBP 1	10	<10
NBP 2	10 <sup>3</sup>	<10	NBP 2	10	<10
NPA	10 <sup>3</sup>	<10	NPA	10	<10
<b>Dan 6</b>			<b>Dan 6</b>		
N	10 <sup>3</sup>	<10	N	10	<10
NP	10 <sup>3</sup>	<10	NP	10	<10
NBP 1	10 <sup>3</sup>	<10	NBP 1	10	<10
NBP 2	10 <sup>3</sup>	<10	NBP 2	10	<10
NPA	10 <sup>3</sup>	<10	NPA	10	<10
<b>Dan 12</b>			<b>Dan 12</b>		
N	10 <sup>3</sup>	<10	N	10	<10
NP	10 <sup>3</sup>	<10	NP	10	<10
NBP 1	10 <sup>3</sup>	<10	NBP 1	10	<10
NBP 2	10 <sup>3</sup>	<10	NBP 2	10	<10
NPA	10 <sup>3</sup>	<10	NPA	10	<10

N - neobrađeni uzorak

NP - obrađeni uzorak (HVED)

NBP 1 - obrađeni uzorak (blanširanje prije pasiranja + HVED)

NBP 2 - obrađeni uzorak (blanširanje kaše poslije pasiranja +HVED)

NPA - pasterizirani uzorak



**Tablica 13** Utjecaj obrade na mikrobiološku stabilnost (*Salmonella* spp. - S), *Listeria monocytogenes* - LM) i (*Escherichia coli* - EC) u uzorcima soka od šipka tijekom 12 dana skladištenja pri 4 °C (CFU/mL uzorka)

S			LM		EC		
Uzorak/ dan	Dopuštena vrijednost (CFU/mL)	Rezultat (CFU/mL)	Dopuštena vrijednost (CFU/mL)	Rezultat (CFU/mL)	Uzorak/ dan	Dopuštena vrijednost (CFU/mL)	Rezultat (CFU/mL)
<b>Dan „0“</b>					<b>Dan „0“</b>		
<b>N</b>	odsutnost u 25 ml	odsutnost	odsutnost u 25 ml	odsutnost	<b>N</b>	10 <sup>2</sup>	<10
<b>NP</b>	odsutnost u 25 ml	odsutnost	odsutnost u 25 ml	odsutnost	<b>NP</b>	10 <sup>2</sup>	<10
<b>NBP 1</b>	odsutnost u 25 ml	odsutnost	odsutnost u 25 ml	odsutnost	<b>NBP 1</b>	10 <sup>2</sup>	<10
<b>NBP 2</b>	odsutnost u 25 ml	odsutnost	odsutnost u 25 ml	odsutnost	<b>NBP 2</b>	10 <sup>2</sup>	<10
<b>NPA</b>	odsutnost u 25 ml	odsutnost	odsutnost u 25 ml	odsutnost	<b>NPA</b>	10 <sup>2</sup>	<10
<b>Dan 6</b>					<b>Dan 6</b>		
<b>N</b>	odsutnost u 25 ml	odsutnost	odsutnost u 25 ml	odsutnost	<b>N</b>	10 <sup>2</sup>	<10
<b>NP</b>	odsutnost u 25 ml	odsutnost	odsutnost u 25 ml	odsutnost	<b>NP</b>	10 <sup>2</sup>	<10
<b>NBP 1</b>	odsutnost u 25 ml	odsutnost	odsutnost u 25 ml	odsutnost	<b>NBP 1</b>	10 <sup>2</sup>	<10
<b>NBP 2</b>	odsutnost u 25 ml	odsutnost	odsutnost u 25 ml	odsutnost	<b>NBP 2</b>	10 <sup>2</sup>	<10
<b>NPA</b>	odsutnost u 25 ml	odsutnost	odsutnost u 25 ml	odsutnost	<b>NPA</b>	10 <sup>2</sup>	<10
<b>Dan 12</b>					<b>Dan 12</b>		
<b>N</b>	odsutnost u 25 ml	odsutnost	odsutnost u 25 ml	odsutnost	<b>N</b>	10 <sup>2</sup>	<10
<b>NP</b>	odsutnost u 25 ml	odsutnost	odsutnost u 25 ml	odsutnost	<b>NP</b>	10 <sup>2</sup>	<10
<b>NBP 1</b>	odsutnost u 25 ml	odsutnost	odsutnost u 25 ml	odsutnost	<b>NBP 1</b>	10 <sup>2</sup>	<10
<b>NBP 2</b>	odsutnost u 25 ml	odsutnost	odsutnost u 25 ml	odsutnost	<b>NBP 2</b>	10 <sup>2</sup>	<10
<b>NPA</b>	odsutnost u 25 ml	odsutnost	odsutnost u 25 ml	odsutnost	<b>NPA</b>	10 <sup>2</sup>	<10

N - neobrađeni uzorak

NP - obrađeni uzorak (HVED)

NBP 1 - obrađeni uzorak (blanširanje prije pasiranja + HVED)

NBP 2 - obrađeni uzorak (blanširanje kaše poslije pasiranja +HVED)

NPA - pasterizirani uzorak

Istraživanja o primjeni plazme danas su uglavnom usmjerena na uništavanje mikroorganizama na površini hrane i materijalima za pakiranje, ali sve više i na inaktivaciju mikroorganizama u

sokovima. Metoda se pokazala vrlo uspješnom, jer se postiže redukcija viša od  $5 \log_{10}$  CFU/mL (Pankaj, 2018).

Jedan od ciljeva ovog rada bio je ispitati mikrobiološku kvalitetu sokova šipka obrađenih plazmom, koja predstavlja noviju tehniku u obradi voćnih sokova.

U tu svrhu ispitana je sukladnost pripremljenih uzoraka soka s preporučenim mikrobiološkim kriterijima. „Sukladnost s mikrobiološkim kriterijima” znači dobivanje zadovoljavajućih ili prihvatljivih rezultata utvrđenih u Prilogu 1. kod ispitivanja u odnosu na vrijednosti postavljene za kriterije uzimanjem uzoraka, provođenjem ispitivanja te provedbom korektivnih radnji u skladu s propisima o hrani i uputama nadležnog tijela (Uredba Komisije EZ br. 2073/2005. o mikrobiološkim kriterijima za hranu - od 15. studenoga 2005).

„Mikrobiološki kriterij” znači kriterij kojim se utvrđuje prihvatljivost nekog proizvoda, serije hrane ili procesa, na temelju odsutnosti, prisutnosti ili broja mikroorganizama i/ili količine njihovih toksina/metabolita po jedinici mase, volumena, površine ili serije.

Uzorci soka analizirani su u skladu s *Uredbom* (2073/2005) i *Vodičem za mikrobiološke kriterije za hranu* (2011), a analize su obuhvatile: aerobne mezofilne bakterije, *Enterobacteriaceae*, *Salmonella* spp., *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes*, te kvasce i plijesni.

Rezultati ispitivanja za isti uzorak se mogu razlikovati ovisno o korištenoj metodi analize i zbog toga je propisana referentna metoda za svaki mikrobiološki kriterij.

Analize su provedene neposredno nakon pripreme soka - nulti dan („0“), te 6. i 12. dan skladištenja uzoraka pri 4 °C.

Broj aerobnih mezofilnih bakterija (AMB) i bakterija roda *Enterobacteriaceae* (EB) u ispitivanim uzorcima soka bio je sukladan s preporučenim kriterijima (**Tablica 12**). Rezultati iz **Tablice 13** pokazuju da niti u jednom uzorku soka tijekom 12 dana skladištenja nije zabilježena prisutnost *Salmonella* spp. (S) i *Listeria monocytogenes* (LM). Svi uzorci zadovoljavaju preporučene kriterije i u pogledu bakterije vrste *Escherichia coli* (EC),  $m=10^2$  CFU/mL, **Tablica 13**). Najbolju mikrobiološku stabilnost ( $< 10$  CFU/mL) u pogledu broja kvasaca i plijesni pokazali su pasterizirani sok (NPA) i sok NBP 2, pripremljen od kaše blanširane nakon pasiranja, koji je nakon pripreme obrađen plazmom (**Tablica 14**). Rezultati mikrobioloških ispitivanja za ostale uzorke pokazali su da je broj kvasaca i plijesni iznad preporučene granične vrijednosti za nepasterizirane voćne sokove ( $m=10^2$  CFU/mL soka). To znači da rezultati nisu sukladni s preporučenim kriterijima *Vodiča za mikrobiološke kriterije za hranu* (2011), čija je provedba osigurana Zakonom o higijeni hrane i mikrobiološkim kriterijima za hranu (NN 81/13 i 115/18).

**Tablica 14** Utjecaj obrade na mikrobiološku stabilnost (kvasci i plijesni) u uzorcima soka od šipka tijekom 12 dana skladištenja pri 4 °C (CFU/mL uzorka)

Uzorak/dan	Dopuštena vrijednost (CFU/mL)	Kvasci i plijesni (CFU/mL)
<b>Dan „0“</b>		
<b>N</b>	10 <sup>2</sup>	9,1×10 <sup>3</sup>
<b>NP</b>	10 <sup>2</sup>	4,8×10 <sup>2</sup>
<b>NBP 1</b>	10 <sup>2</sup>	1,6×10 <sup>3</sup>
<b>NBP 2</b>	10 <sup>2</sup>	<10
<b>NPA</b>	10 <sup>2</sup>	<10
<b>Dan 6</b>		
<b>N</b>	10 <sup>2</sup>	1,6×10 <sup>3</sup>
<b>NP</b>	10 <sup>2</sup>	7×10 <sup>2</sup>
<b>NBP 1</b>	10 <sup>2</sup>	9,7×10 <sup>2</sup>
<b>NBP 2</b>	10 <sup>2</sup>	<10
<b>NPA</b>	10 <sup>2</sup>	<10
<b>Dan 12</b>		
<b>N</b>	10 <sup>2</sup>	1,0×10 <sup>5</sup>
<b>NP</b>	10 <sup>2</sup>	1,6×10 <sup>4</sup>
<b>NBP 1</b>	10 <sup>2</sup>	2,6×10 <sup>4</sup>
<b>NBP 2</b>	10 <sup>2</sup>	<10
<b>NPA</b>	10 <sup>2</sup>	<10

N - neobrađeni uzorak

NP - obrađeni uzorak (HVED)

NBP 1 - obrađeni uzorak (blanširanje prije pasiranja + HVED)

NBP 2 - obrađeni uzorak (blanširanje kaše poslije pasiranja +HVED)

NPA - pasterizirani uzorak

Kvasci i plijesni čine značajan udio mikroflore voća. U istraživanju Lacombe i sur. (2015.), za razliku od bakterija, obrada plazmom, također, se nije pokazala uspješnom u smanjenju ukupnog broja kvasaca i plijesni na borovnicama.

Obrada plazmom izaziva nekoliko vrsta stresa u stanicama mikroorganizama, pa tako i kvasaca. Iako su neki učinci plazme neovisni, npr. izravno kemijsko oštećenje više staničnih komponenti reaktivnim česticama plazme, još uvijek nema dovoljno podataka o odnosima i povezanosti između različitih učinaka plazme na mikroorganizme.

## **5. ZAKLJUČAK**

Na osnovu rezultata istraživanja provedenih u ovom radu, mogu se izvesti sljedeći zaključci:

- iz rezultata fizikalno-kemijske analize pulpe može se zaključiti da je šipak bogat izvor bioaktivnih tvari kao što su polifenoli (1242 mg GAE 100g<sup>-1</sup>) i askorbinska kiselina (500,74 mg 100g<sup>-1</sup>)
- polifenoli i askorbinska kiselina pokazali su stabilnost pri različitim procesnim uvjetima obrade plazmom (frekvencijama pražnjenja od 50 i 100 Hz, tijekom 10, 15 i 20 minuta obrade);
- najveći stupanj degradacije askorbinske kiseline (gubitak od 55%) i fenolnih tvari (50%), kao i najveća ukupna promjena boje (10,47) zabilježena je u pasteriziranom soku;
- obrada plazmom nije značajnije utjecala na pad pH vrijednosti i porast električne vodljivosti sokova;
- mikrobiološke analize provedene pomoću referentnih metoda za svaki mikrobiološki kriterij, i to neposredno nakon pripreme soka - nulti dan („0“), te 6. i 12. dan skladištenja uzoraka pri 4 °C pokazuju da:
  - je broj aerobnih mezofilnih bakterija i bakterija porodice *Enterobacteriaceae* u ispitivanim uzorcima soka bio sukladan s važećim mikrobiološkim kriterijima
  - niti u jednom uzorku soka tijekom 12 dana skladištenja nije zabilježena prisutnost patogenih bakterija *Salmonella* spp. i *Listeria monocytogenes*
  - svi uzorci zadovoljavaju preporučene kriterije u pogledu bakterije vrste *Escherichia coli* (m=10<sup>2</sup> CFU/mL)
  - su najbolju mikrobiološku stabilnost (< 10 CFU/mL) u pogledu broja kvasaca i plijesni pokazali pasterizirani sok (NPA) i sok NBP 2, pripremljen od kaše blanširane nakon pasiranja, koji je nakon pripreme obrađen plazmom
  - rezultati drugih uzoraka nisu sukladni s preporučenim kriterijima *Vodiča za mikrobiološke kriterije za hranu, jer je broj kvasaca i plijesni iznad preporučene granične vrijednosti za nepasterizirane voćne sokove* (m=10<sup>2</sup> CFU/mL soka).

## **6. LITERATURA**

- Agroclub. *Vrijeme je za berbu šipka*. 2018. <https://www.agroklub.com/hortikultura/vrijeme-je-za-berbu-sipka/45048/> (02.05.2021.) WEB 6
- Almeida FDL, Cavalcante RS, Cullen PJ, Frias JM, Bourke P, Fernandes FA, Rodrigues S: Effects of atmospheric cold plasma and ozone on prebiotic orange juice. *Innovative Food Science & Emerging Technologies* 32:127-135, 2015.
- Amid M: Development of microwave cool plasma for microbial inactivation in food applications. *Doctor of philosophy*. Swinburne University of Technology, Swinburne, 2011.
- Barba FJ, Esteve MJ, Frígola A: High pressure treatment effect on physicochemical and nutritional properties of fluid foods during storage: A review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* 11:307-322, 2012.
- Barba FJ, Parniakov O, Pereira SA, Wiktor A, Grimi N, Boussetta N, Saraiva JA, Raso J, Martin-Belloso O, Witrowa-Rajchert D: Current applications and new opportunities for the use of pulsed electric fields in food science and industry. *Food Research International* 77:773-798, 2015.
- Barbosa-Cánova GV, Schaffner DW, Pierson MD, Zhang QH: Pulsed light technology. *Journal of Food Science* 65: 82-5, 2000.
- Bengtsson N, Ohlsson T: *Minimal processing technologies in the food industry*. Woodhead publishing limited and CRC Press LLC, North America, 2002.
- Bradzik A, Ishdorj A, Jang JW: Super-premium fruit and vegetable beverages: a retail sales analysis and demand estimation. *Agricultural and Resource Economics Review* 563-580, 2016.
- Brkić A: Fizikalno – kemijski sastav i antioksidativna aktivnost plodova i kaše šipka (*Rosa canina*L.). *Završni rad*, Prehrambeno – tehnološki fakultet Osijek, Osijek, 2020.
- Calado T, Venancio A, Abrunosa L: Irradiation for mold and mycotoxin control: a review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* 13:1049-1061, 2014.
- Choi JI, Lim S: Inactivation of fungal contaminants on Korean traditional cashbox by gamma irradiation. *Radiation Physics and Chemistry* 118:70-74, 2016.
- Dasan BG, Boyaci IH: Effect of cold atmospheric plasma on inactivation of *Escherichia coli* and physicochemical properties of apple, orange, tomato juices, and sour cherry nectar. *Food Bioprocess Technology* 11:334-343, 2018.

Degirmenci A, Er M, Turkut GM, Okumus G: Comparison the effect of process temperature on some biochemical properties of nectar from fresh and dried rosehip. *Journal of Apitherapy and Nature* 7:20-27, 2018.

Dziadek K, Kopeć A, Drózdź T, Kielbasa P, Ostafin M, Bulski K, Oziembłowski M: Effect of pulsed electric field treatment on shelf life and nutritional value of apple juice. *Journal of Food Science and Technology* 56(3):1184-1191, 2019.

Fridman A: *Plasma chemistry*. Cambridge University press, New York, 2008.

Ganhão R, Morcuende D, Estévez M: Protein oxidation in emulsified cooked burger patties with added fruit extracts: Influence on colour and texture deterioration during chill storage. *Meat Science* 85(3):402-409, 2010.

García AF, Antal Bognár PB, Tauscher B: Antioxidative capacity, nutrient content and sensory quality of orange juice and an orange-lemon-carrot juice product after high pressure treatment and storage in different packaging. *European Food Research and Technology* 213:290-296, 2001.

Harrison EE: A critical review of vitamin C for the prevention of age-related cognitive decline and Alzheimer's disease. *Journal of Alzheimer's disease* 29:711-726, 2012.

Hrvatska enciklopedija, *Plazma*. Leksikografski zavod Miroslav Krleža, 2021.  
<https://enciklopedija.hr/natuknica.aspx?ID=48662> (20.04.2021) WEB 2

Illera AE, Chaple S, Sanz MT, Ng S, Lu P, Jones J, Carey E, Bourke P: Effect of cold plasma on polyphenol oxidase inactivation in cloudy juice and on the quality parameters of juice during storage. *Food Chemistry: X* 3,2019.

Jordão AM: Phenolic compounds in fruit beverages, *Bevearges* 4(2):35, 2018.

Kalagatur NK, Kamasani JR, Mudili V: Assessment of detoxification efficacy of irradiation on zearalenone mycotoxin in various fruit juices by response surface methodology and elucidation of its *in-vitro* toxicity. *Frontiers in microbiology* 9, 2018.

Kalawate A, Mehetre S: Isolation and characterization of mold fungi and insects infecting sawmill wood, and their inhibition by gamma radiation. *Radiation Physics and Chemistry* 117:191-197, 2015.

Koczka N, Stefanovits-Banyai E, Ombodi A: Total polyphenol content and antioxidant capacity of rosehips of some *rosa* species. *Medicines* 5:84, 2018.

Komes L, Papeš-Mokos B, Nanić Z, Fazinić M: *Slušaj kako zemlja diše*. Alpha d.d., Zagreb, 1996.



Lacombe A, Niemira BA, Gurtler JB, Fan X, Sites J, Boyd G, Chen H: Atmospheric cold plasma inactivation of aerobic microorganisms on blueberries and effects on quality attributes. *Food Microbiology* 46:479-484, 2015.

Leahu A, Damian C, Oroian M, Ropciue S, Rotaru R: Influence of processing on vitamin C content of rosehip fruits. *Animal Science and Biotechnologies* 47:116-120, 2014.

Levaj B: *Prehrambena tehnologija namirnica biljnog podrijetla*, Tehnologija voća i povrća II dio. Prehrambeno-biotehnološki fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Zagreb, 2013.

Liao X, Liu D, Xiang Q, Ahn J, Chen S, Ye X, Ding T: Inactivation mechanisms of non-thermal plasma on microbes: A review, *Food control* 75:83-91, 2017.

Lovrić T, Piližota V: *Konzerviranje i prerada voća i povrća*. Nakladni zavod Globus, Zagreb, 1994.

Ma TJ, Lan WS: Effects of non-thermal plasma sterilization on volatile components of tomato juice. *International Journal of Environmental Science and Technology* 12:3767-3772, 2015.

Mármol I, Sánchez-de-Diego C, Jiménez-Moreno N, Ancín-Azpilicueta C, Rodríguez-Yoldi MJ: Therapeutic applications of rose hips from different rosa species. *International Journal of Molecular Sciences* 18(6):1137, 2017.

Misra NN, Tiwari BK., Raghavarao KSMS, Cullen PJ: Nonthermal plasma inactivation of food-borne pathogens. *Food Engineering Reviews* 3:159-170, 2011.

Misra NN, Schlüter OK, Cullen PJ: *Cold plasma in food and agriculture fundamentals and application*, Academic Press, London, 2016.

Montenegro J, Ruan R, Ma H, Chen P: Inactivation of *E. coli* O157:H7 using a pulsed nonthermal plasma system, *Journal of Food Science* 67:646-648, 2002.

MP, Ministarstvo poljoprivrede: Vodič za mikrobiološke kriterije za hranu, 3. izmijenjeno izdanje, 2011.

MP, Ministarstvo poljoprivrede: Pravilnik o voćnim sokovima i njima sličnim proizvodima namijenjenim za konzumaciju. Narodne novine NN 48/2013, 2013.

MP, Ministarstvo poljoprivrede: Pravilnik o voćnim džemovima, želeima, marmeladama, pekmezu te zaslađenom kesten pireu. Narodne novine NN 84/2019, 2019.

MZSS, Ministarstvo zdravstva i socijalne skrbi: Pravilnik o hrani podvrgnutoj ionizirajućem zračenju. Narodne novine NN 38/2008., 2008.

Muñoz A, Caminiti IM, Palgan I, Pataro G, Noci F, Morgan DJ, Lyng JG: Effects on *Escherichia coli* inactivation and quality attributes in apple juice treated by combinations of pulsed light and thermosonication. *Food Research International* 45:299-305, 2012.

Nedić Tiban N: *Minimalno procesirana hrana*. Prehrambeno-tehnološki fakultet, 2021. [http://studenti.ptfos.hr/?dir=Diplomski\\_studij/Minimalno\\_procesiranje\\_hrane\(18.04.2021.\)](http://studenti.ptfos.hr/?dir=Diplomski_studij/Minimalno_procesiranje_hrane(18.04.2021.)) WEB 1

Nedić Tiban N: *Tehnologija konzerviranja i prerade voća i povrća*. Prehrambeno-tehnološki fakultet, 2021.

[http://studenti.ptfos.hr/?dir=Diplomski\\_studij/Tehnologija\\_konzerviranja\\_i\\_prerade\\_voca\\_i\\_povrca](http://studenti.ptfos.hr/?dir=Diplomski_studij/Tehnologija_konzerviranja_i_prerade_voca_i_povrca) (02.06.2021.) WEB 3

Niemira BA, Sites J: Cold plasma inactivates *Salmonella stanley* and *Escherichia coli* O157:H7 inoculated on golden delicious apples. *Journal of Food Protection* 71:1357-1365, 2008.

Niketić-Aleksić G: *Tehnologija voća i povrća*. Poljoprivredni fakultet, Beograd, 1988.

Ozen E, Singh RK: Atmospheric cold plasma treatment of fruit juices: A review. *Trends in Food Science & Technology* 103:144-151, 2020.

Pan Y, Cheng JH, Sun DW: Extension of fresh produce: a review of recent research developments. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* 18:1312-1326, 2019.

Pankaj SK, Wan Z, Colonna W, Keener KM: Effect of high voltage atmospheric cold plasma on white grape juice quality. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 97:4016-4021, 2017.

Pankaj SK, Wan Z, Keener M: Effects of Cold Plasma on Food Quality: A Review. *Foods*, 7(1):4, 2018.

Parađiković N: *Ljekovito i začinsko bilje*. *Nastavni materijal za modul Ljekovito i začinsko bilje*, Poljoprivredni fakultet u Osijeku, Osijek, 2014.

Perni S, Shama G, Kong MG: Atmospheric plasma disinfection of cut fruit surfaces contaminated with migrating microorganisms. *Journal of Food Protection* 71:1619-1625, 2008.

Petruzzi L, Campaniello D, Speranza B, Corbo MR, Sinigaglia M, Bevilacqua A: Thermal treatments for fruit and vegetable juices and beverages: a literature overview. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* 16:668-691, 2017.

Polčić P, Machala Z: Effects of non-thermal plasma on yeast *Saccharomyces cerevisiae*. *International Journal of Molecular Sciences* 22 2247:1-15, 2021.

Priroda i biljke. *Divlja ruža, Rosa canina*. 2021. <https://www.plantea.com.hr/divlja-ruza/> (25.04.2021) WEB 4

Putnik P, Pavlič B, Šojić B, Zavadlav S, Žuntar I, Kao L, Kitonić D, Bursać Kovačević D: Innovative hurdle technologies for the preservation of functional fruit juices. *Foods* 9(6):699, 2020.

Ramazzina I, Tappi S, Rocculi P, Sacchetti G, Berardinelli A, Marseglia A, Rizzi F: Effect of cold plasma treatment on the functional properties of fresh-cut apples. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 64:8010-8018, 2016.

Rodriguez Ó, Gomes WF, Rodrigues S, Fernandes EA: Effect of indirect cold plasma treatment on cashew apple juice (*Anacardium occidentale* L.). *LWT-Food Science and Technology* 84:457-463, 2017.

Roman I, Stănilă A, Stănilă S: Bioactive compounds and antioxidant activity of *Rosa canina* L. biotypes from spontaneous flora of Transylvania. *Chemistry Central Journal* 7:73-82, 2013.

Sánchez-Moreno C, Begoña de Ancos LP, Cano MP: Effect of high-pressure processing on health-promoting attributes of freshly squeezed orange juice (*Citrus sinensis* L.) during chilled storage. *European Food Research and Technology* 216:18-22, 2002.

Santhirasegaram V, Razali Z, George DS, Somasundram C: Effect of thermal and non-thermal processing on phenolic compounds, antioxidant activity and sensory attributes of chokanan mango (*Mangifera indica* L.) juice. *Food and Bioprocess Technology* 8:2256-2267, 2015.

Sarangapani C, OToole G, Cullen P, Bourke P: Atmospheric cold plasma dissipation efficiency of agrochemicals on blueberries. *Innovative Food Science & Emerging Technologies* 44:235-241, 2017.

Shi XM, Zhang GJ, Member IEEE, Wu XL, Li YX, Ma Y, Shao XJ: Effect of low-temperature plasma on microorganism inactivation and quality of freshly squeezed orange juice. *IEEE Transactions on Plasma Science* 39:1591-1597, 2011.

Siguemoto ÉS, Pereira LJ, Gut JAW: Inactivation kinetics of pectin methylesterase, polyphenol oxidase, and peroxidase in cloudy apple juice under microwave and conventional heating to evaluate non.thermal microwave effect. *Food and Bioprocess Technology* 11:1359-1369, 2018.

Stanić L: Bioaktivne komponente ploda pasje ruže (*Rosa Canina* L.). *Diplomski rad*, Sveučilište u Zagrebu, Agronomski fakultet, Zagreb, 2017.

Starek A, Pawlat J, Chudzik B, Kwiatkowski M, Terebun P, Sagan A, Andrejko D: Evaluation of selected microbial and physicochemical parameters of fresh tomato juice after cold atmospheric pressure plasma treatment during refrigerated storage. *Scientific Reports* 9:8407, 2019.

Starek A, Sagen A, Andrejko D, Chudzik B, Kobus Z, Kwiatkowski M, Terebun P, Pawlat J: Possibility to extend the shelf life of NFC tomato juice using cold atmospheric pressure plasma. *Scientific Reports* 10:20959, 2020.

Surowsky B, Fröhling A, Gottschalk N, Schlüter O, Knorr D: Impact of cold plasma on *Citrobacter freundii* in apple juice: Inactivation kinetics and mechanisms. *International Journal of Food Microbiology* 174:63-71, 2014.

Svijet kvaliete. *Kvaliteta*. 2012. <https://www.svijet-kvalitete.com/index.php/kvaliteta> (29.04.2021.) WEB 7

Šeremet D: Određivanje hidroksilnih radikala i antioksidacijskog kapaciteta elektronskom spinskom rezonancijom nakon visokonaponskog pražnjenja. *Diplomski rad*. Prehrambeno-biotehnološki fakultet, Zagreb, 2018.

Šindrak Z, Jemrić T, Grđan K, Baričević L: *Divlje ruže. Važnost, uporaba i uzgoj*. Hrvatska sveučilišna naklada, Zagreb, 2013.

Thirumdas R, Sarangapani C, Annapure US: Cold plasma: A novel non-thermal technology for food processing. *Food Biophysics* 10:1-11, 2014.

Thirumdas R, Kothakota A, Annapure U, Siliveru K: Plasma activated water (PAW): Chemistry, physico-chemical properties, applications in food and agriculture. *Trends in Food Science & Technology* 77:21-31, 2018.

Umair M, Jabbar S, Senan AM, Sultana T, Nasiru MM, Shah AA, Zhuang H, Jianhao Z: Influence of combined effect of ultra-sonication and high-voltage cold plasma treatment on quality parameters of carrot juice. *Foods* 8:593, 2019.

U.S. DEPARTMENT OF AGRICULTURE, Agricultural research service. *Rose Hips, wild* (Northern plains Indians). 2019. <https://fdc.nal.usda.gov/fdc-app.html#/food-details/168998/nutrients> (07.09.2021.) WEB 5

Valero M, Recrosio N, Saura D, Munoz N, Martic N, Lizama V: Effect of ultrasonic treatments in orange juice processing. *Journal of Food Engineering* 80:509-516, 2007.

Van de Veen HB, Xie H, Esveld E: Inactivation of chemical and heat-resistant spores of *Bacillus* and *Geobacillus* by nitrogen cold atmospheric plasma evokes distinct changes in morphology and integrity of spores. *Food Microbiology* 45:26-33, 2014.

Zakon o higijeni hrane i mikrobiološkim kriterijima za hranu, Narodne novine 81, 2013.

Zakon o izmjenama Zakona o higijeni hrane i mikrobiološkim kriterijima za hranu, Narodne novine 115, 2018.

Wang RX, Nian WF, Wu HY, Feng HQ, Zhang K, Zhang J, Zhu WD, Becker KH, Fang J: Atmospheric-pressure cold plasma treatment of contaminated fresh fruit and vegetable slices: inactivation and physiochemical properties evaluation. *The European Physical Journal D* 66:276, 2012.

Whitehead JC: The chemistry of cold plasma. U: *Cold plasma in food and agriculture-fundamentals and applications* 53-81. Academic Press, London, 2016.

Won MY, Lee SJ, Min SC: Mandarin preservation by microwave-powered cold plasma treatment. *Innovative Food Science And Emerging Technologies* 39:25-32, 2016.

Wu X, Zhao W, Zeng X, Zhang Q, Gao G, Song S: Effects of cold plasma treatment on cherry quality during storage. *Food Science and Technology International* 27 (5):441-455, 2020.

Xiang Q, Liu X, Li J, Liu S, Zhang H, Bai Y: Effect of dielectric barrier discharge plasma on the inactivation of *Zigosaccharomyces rouxii* and quality of apple juice. *Food Chemistry* 254:201-207, 2018.

Xu L, Garner AL, Tao B, Keener KM: Microbial inactivation and quality changes in orange juice treated by high voltage atmospheric cold plasma. *Food Bioprocess Technology* 10:1778-1791, 2017.

Yildiz O i Alpaslan M: Rose hip marmelade. *Food Technology Biotechnology* 50:98-106, 2012.

Yoruk IH, Turker M, Kazanova A, Erez ME, Battal P, Celik F: Fatty acid, sugar and vitamin contents in rose hip species. *Asian Journal of Chemistry* 20:1357-1364, 2008.

Yu X: Effect of atmospheric cold plasma treatment on fruit juice quality. *Master of Science*. Food Science and Technology, Iowa State University, Iowa, 2020.